

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE MONTPELLIER

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

(mention Science)

par

Claude COLETTE-MARTIN

Licenciée ès Sciences

1^{re} THÈSE

Contribution à l'étude de l'évolution des Composés phosphorés dans la Conservation des aliments

2^{me} THÈSE

Proposition donnée par la Faculté

Soutenues le 2 Octobre 1965 devant la Commission d'examen

JURY

M. E. KAHANE

Président

M. J. ROUZAUD

} *Assesseurs*

M^{lle} N. PIREYRE

THÈSES
PRÉSENTÉES
À LA FACULTÉ DES SCIENCES DE MONTRÉAL
PAR
LE COMITÉ DE DOCTORANTS
DE LA FACULTÉ
EN 1925
PAR M. CHÉRYL MATHIEU
CHÉRYL MATHIEU
1925
Digitized by the Internet Archive
in 2026
de l'Institut des produits phosphorés
dans la Conservation des aliments
2^e THÈSE
Présentée comme partie d'un
Cours de 2^e Année à l'École de Chimie
1925
M. S. MATHIEU
M. S. MATHIEU

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE MONTPELLIER

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR D'UNIVERSITÉ

(mention Science)

par

Claude COLETTE-MARTIN

Licenciée ès Sciences

1^{re} THÈSE

Contribution à l'étude de l'évolution des Composés phosphorés dans la Conservation des aliments

2^{me} THÈSE

Proposition donnée par la Faculté

Soutenues le 2 Octobre 1965 devant la Commission d'examen

JURY

M. E. KAHANE

Président

M. J. ROUZAUD

} *Assesseurs*

M^{lle} N. PIREYRE

FACULTÉ DES SCIENCES DE MONTPELLIER

LISTE DES PROFESSEURS

DOYEN : B. CHARLES

ASSESSEURS : R. JOUTY - M. FALGUEIRETTES

DOYEN HONORAIRE : P. MATHIAS

PROFESSEURS HONORAIRES : R. JACQUES E. TURRIERE J. GRANIER
M. CASTERAS J. SOULA
E. CARRIERE G. DENIZOT

PROFESSEURS TITULAIRES :

M. MOUSSERON	Chimie
M. L. EMBERGER	Botanique
M. Ch. BOUHET	Physique
M. P. MATHIAS	Zoologie et Biologie Générale
M. JP. ROIG	Physique
M. P. CHATELAIN	Minéralogie et Cristallographie
Mlle O. TUZET	Zoologie et Biologie Générale
Mlle G. CAUQUIL	Chimie
M. G. COUCHET	Mécanique Supérieure
M. J. SALVINIEN	Chimie - Physique
Mlle A.M. VERGNOUX	Physique
M. J. AVIAS	Géologie
M. P. VIELES	Chimie
M. J. RABINOVITCH	Physique (C.S.U.)
M. E. KAHANE	Chimie Biologique
M. J.J. MOREAU	Mécanique Rationnelle
M. B. CHARLES	Mathématiques Pures
M. J. MOTTE	Botanique
M. R. JOUTY	Physique
M. R. LEGENDRE	Zoologie
M. C. CHALIN	Physique
M. I. ASSENMACHER	Physiologie Animale
M. B. PISTOULET	Physique
M. Ch. ROUMIEU	Analyse Supérieure
M. A. POTIER	Chimie Minérale
M. R. LA FONT	Physique
M. R. JACQUIER	Chimie
M. J. FALGUEIRETTES	Minéralogie
Mme CHARLES	Mathématiques
M. P. CAILLON	Physique
M. J. ROUZAUD	Chimie
M. Ch. SAUVAGE	Botanique
M. P. DUMONTET	Physique
M. H. CHRISTOL	Chimie

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

Mme M. de POUQUES	Botanique (C.S.U.)
M. P. MURAOUR	Géophysique appliquée
Mme M. LAFON	Mathématiques
M. M. MATTAUER	Géologie
M. G. TOURNE	Chimie
M. L. EUZET	Zoologie (C.S.U.)
M. J. REMY	Géologie
Mme G. VERNET	Biologie Animale
M. H. ANDRILLAT	Astronomie
M. P. DEMANGEON	Géologie
M. A. BONNET	Botanique
M. J.P. LAFON	Mathématiques
M. C. DELOUPY	Physique
M. L. GRAMBAST	Botanique
M. A. SAVELLI	Physique

MAITRES DE CONFÉRENCES :

Mlle PIREYRE	Botanique
Mme Ch. DUBOUL-RAZAVET	Géologie (C.S.U.)
M. E. GROUBERT	Physique
Mme H. GUASTALLA	Biologie Physico-Chimique
M. A. STEINER	Psychophysiologie
M. G. LAMATY	Chimie
M. R. GAUFRES	Chimie
M. F. PROUST	Géologie
M. A. BASSOMPIERRE	Physique
M. A. MARTINEAU	Mathématiques
M. R. MARTY	Physiologie Animale
M. M. MAURIN	Chimie
M. J.J. SOULIER	Chimie (C.S.U.)
M. J. PARIS	Biologie Animale (C.S.U.)
M. P. MOLINO	Mathématiques (C.S.U.)
M. ROBY	Mathématiques (C.S.U.)

CHARGÉS D'ENSEIGNEMENT :

M. LEFRANC	Mathématiques
M. A. STURER	Mathématiques
Mlle A. BAILLETTE	Mathématiques (C.S.U.)
M. CECCHI	Physique (C.S.U.)
M. BOUGNOT	Physique (C.S.U.)

SECRÉTAIRE PRINCIPAL :

M. E. SIAU

A V A N T - P R O P O S

Je voudrais exprimer ma reconnaissance à Monsieur le Professeur KAHANE qui m'a inspiré ce travail et m'a guidée tout au long de son exécution. Je le remercie très sincèrement de la compréhension et de la bienveillance dont il a toujours fait preuve à mon égard.

Je remercie Monsieur le Professeur ROUZAUD de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail. La documentation qu'il m'a fournie pour l'étude du deuxième sujet a facilité ma tâche.

Mes remerciements vont également à Mademoiselle PIREYRE pour avoir bien voulu accepter de faire partie de ce Jury.

Je sais gré à mes camarades de laboratoire de l'atmosphère de cordialité qu'ils ont su faire régner. Je remercie tout particulièrement Mademoiselle DURAND qui m'a apporté une aide précieuse et amicale dans la 1^{ère} partie de ce travail.

Mr GABRION, directeur des Etablissements qui nous ont fourni la matière première, m'a également donné de précieux conseils dont je le remercie vivement.

Ma reconnaissance va enfin à l'Institut APPERT et à son Directeur Monsieur DUROCHER. J'ai été pendant 2 ans stagiaire à l'Institut APPERT qui m'a ainsi donné les moyens matériels de mener ce travail.

I N T R O D U C T I O N

S'il y a une très abondante littérature sur la quantité et la nature des composés phosphorés dans les organes animaux et végétaux, on ne trouve que peu de chose sur le sort de ces substances au cours de la préparation et de la conservation des aliments.

Sans doute le phosphore reste-t-il intact, mais les lavages et autres opérations culinaires et industrielles peuvent en faire perdre une partie plus ou moins importante, de telle sorte que la quantité consommée est plus faible - et parfois beaucoup plus faible - que ce qui en était initialement présent.

Le point de vue qualitatif n'est pas moins important, bien que nous sachions peu de chose de la valeur nutritionnelle comparée du phosphore selon qu'il se présente à l'état minéral, phosphatidique, nucléique, etc... Le point de vue nutritionnel n'est pas le seul à devoir être pris en considération à cet égard, le point de vue alimentaire tient compte de la consistance, de l'hydratation, etc..., qui tiennent en partie sous leur dépendance la présentation et les qualités gustatives de l'aliment offert à la consommation. Or, on sait que la teneur en ATP des substances biologiques intervient dans la turgescence de certaines préparations, la teneur en lécithines dans la stabilité de certaines émulsions, etc... Il n'est donc pas superflu de savoir si ces constituants sont dégradés ou ne le sont pas.

C'est l'étude que nous nous sommes proposée en qualité de boursiers de l'Institut Appert. C. COLETTE (1-2) avait déjà étudié la répartition et la conservation des composés phosphorés dans le cas de la saucisse appertisée.

Nous avons poursuivi son travail, d'une part en approfondissant certains de ses résultats qui nous ont paru intéressants, d'autre part en opérant sur un produit d'origine végétale : les petits pois.

Notre exposé comprend de la sorte deux parties : l'une relative à la saucisse appertisée, l'autre aux petits pois.

Avant d'aborder la première partie, nous rappellerons les techniques expérimentales de base, communes aux deux parties.

TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES DE BASE

Pour tous les échantillons étudiés, les composés phosphorés ont été séparés en groupes dans lesquels nous avons dosé le phosphore.

I PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Afin de travailler sur un matériel aussi homogène que possible C. COLETTE broyait les échantillons dans un appareil de type Durel et Sausse. C'est à partir de cet homogénat que les composés phosphorés étaient séparés par groupes; nous discuterons plus loin l'opportunité de cette méthode.

II SÉPARATION PAR GROUPES DES COMPOSÉS PHOSPHORÉS

Nous utilisons la technique de SCHMIDT et TANNHAUSER modifiée par SCHNEIDER (3) dont nous rappellerons brièvement le principe :

- L'acido-soluble est extrait par l'acide trichloracétique à 10 p. cent, à froid. Nous y étudions principalement le phosphore minéral, le phosphore thermolabile et le phosphore acido-soluble total.
- Les lipides sont ensuite extraits à froid par un mélange alcool-éther 3-1.
- Les acides nucléiques sont solubilisés par action de la potasse normale à 37° C, pendant 18 heures. Le milieu est ensuite amené à pH 7 par l'acide chlorhydrique 6 N, puis acidifié par l'acide trichloracétique à 5 p. cent

jusqu'à floculation. L'ARN dégradé reste dans la solution qui est séparée par centrifugation. L'ADN est alors extrait du culot par l'acide trichloracétique à 5 p. cent, 30 minutes à 90° C.

— L'insoluble contient les phosphoprotéines.

III DOSAGE DU PHOSPHORE

Nous avons adopté le classique dosage du phosphore par la méthode colorimétrique au bleu de molybdène selon la technique décrite par MACHEBOEUF et DELSAL (4). Ce dosage ne concernant que les orthophosphates, le phosphore organique est d'abord minéralisé par attaque sulfo-nitro-perchlorique (5).

PREMIÈRE PARTIE

CAS DE LA SAUCISSE APPERTISÉE

CHAPITRE I

RAPPELS DES RÉSULTATS DÉJÀ OBTENUS

Quoique complexe, la fabrication de la saucisse est suffisamment reproductible pour qu'un travail analytique utile soit effectué sur ce matériel. Nous rappelons dans le schéma I l'essentiel de la fabrication à chaque stade de laquelle C. COLETTE a étudié la répartition des composés phosphorés en fractions acido-soluble, lipidique, nucléique et résiduelle.

Schéma I : fabrication de la saucisse
(voir page ci-contre)

Comme la "pâte de taureau" est le constituant le plus intéressant à suivre en raison même du mode de fabrication, nous avons essayé de connaître l'évolution des composés phosphorés du muscle de taureau, depuis son prélèvement à l'état chaud, jusqu'au stade de la saucisse appertisée. Nous avons admis qu'en première approximation, les différents composés phosphorés se comportent de la même façon et subissent la même dégradation, quel que soit le constituant de la saucisse dont ils proviennent, au cours du broyage menant à la chair à saucisse, puis au cours de l'appertisation. C'est d'après ce postulat que nous calculons la partie qui revient à chaque constituant, dans l'analyse de la chair à saucisse puis de la saucisse.

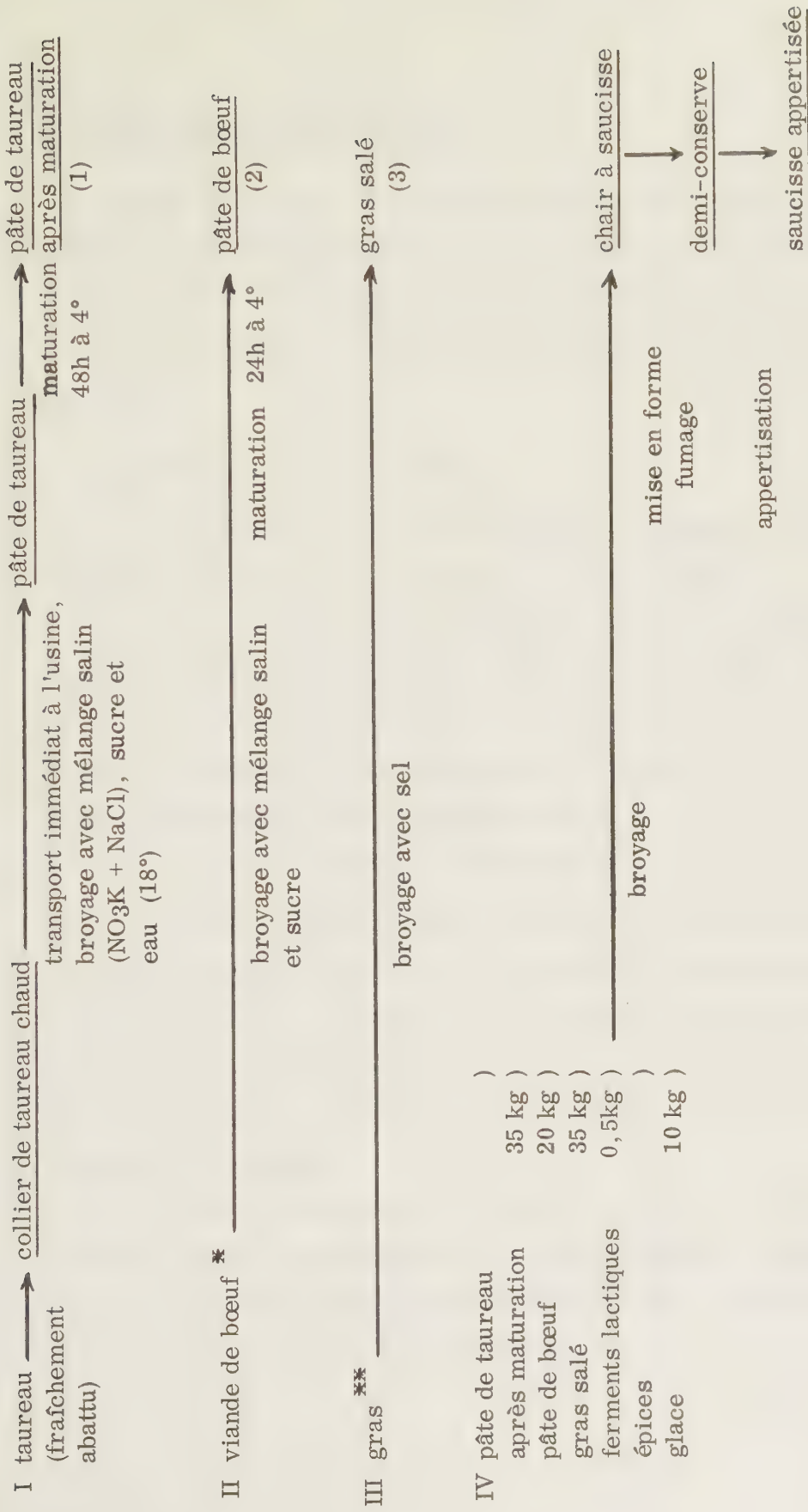


SCHÉMA I

- * la viande de bœuf n'est pas traitée immédiatement comme celle de taureau.
- ** le gras est constitué par les graisses prélevées sur la carcasse de l'animal.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Nous ne donnons pas les résultats sous forme d'un tableau de chiffres mais sous celle d'un graphique (I) plus facile à consulter, où les différents composés phosphorés forment des colonnes superposées, de hauteur proportionnelle à leur taux par rapport au phosphore total du muscle de taureau pris pour unité.

Du graphique I, on peut déduire que :

1°/ Le broyage industriel du muscle de taureau fraîchement abattu, à 18° C, en présence d'eau, dégrade totalement l' ADN primitif.

L' ARN est partiellement dégradé; son phosphore passe de 10,7 à 8 % du total, le reste devenant acido-soluble. Il y a une augmentation paradoxale du phosphore hydrolysable au cours de ce processus. L' ARN résiste cependant assez bien au broyage industriel, puisqu'il est encore présent en grande partie dans la pâte de taureau obtenue.

Les phosphatides résistent intégralement.

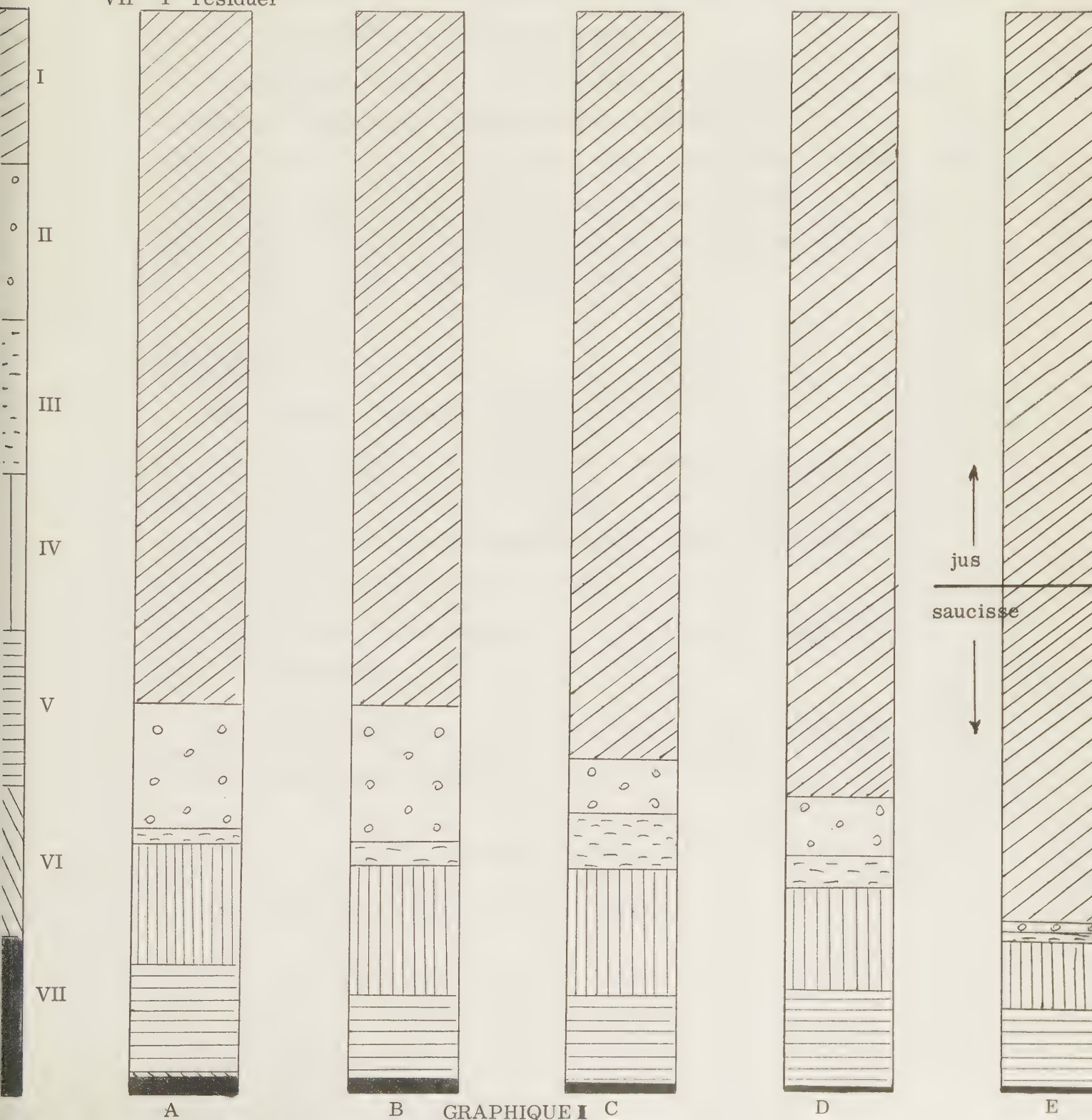
2°/ La maturation est sans effet considérable sur la composition des grandes classes de composés phosphorés. Elle agit sur l'acido-soluble en modifiant qualitativement sa composition : le phosphore organique thermostable de l'acido-soluble est dégradé pendant ce traitement, en partie jusqu'au stade de phosphate minéral, mais il continue à y avoir l'accroissement paradoxal du phosphore hydrolysable.

A la fin de la maturation, on obtient une pâte riche en phosphore minéral et thermolabile, où les autres formes acido-solubles du phosphore organique sont en très faible quantité, et qui conserve à 100 p. cent ses phosphatides et à 75 p. cent ses acides ribonucléiques.

RÉPARTITION DES COMPOSÉS PHOSPHORÉS DU MUSCLE DE TAUREAU rapportée au P total du muscle

- I P acido-soluble minéral
- II P acido-soluble thermostable
- III P acido-soluble thermolabile
- IV P lipidique
- V P ribonucléique
- VI P désoxyribonucléique
- VII P résiduel

- A muscle de taureau "chaud"
- B pâte de taureau
- C pâte de taureau après maturation
- D chair à saucisse
- E saucisse appertisée



3°/ Le mélange des différents constituants en vue de la fabrication de la chair à saucisse provoque de nouvelles dégradations des composés phosphorés, bien que chacun de ces constituants ait déjà été broyé une fois. Il y a une certaine hydrolyse du P thermolabile et des phosphatides, ceux-ci diminuant de 20 p. cent environ. L'ARN ne bouge pas.

4°/ Durant l'appertisation, il y a une dégradation sensible des lipides phosphorés et de l'ARN dont la somme diminue de près de 20 p. cent de sa valeur initiale. Le phosphore ainsi libéré vient enrichir l'acido-soluble. Dans le produit final (boîte de saucisse), le phosphore acido-soluble est presque entièrement minéral. Le phosphate minéral diffuse en grande partie dans le jus, qui renferme la moitié du phosphore total.

DISCUSSION

Deux résultats inattendus retiennent l'attention.

1°/ Apparition du phosphore thermolabile pendant le broyage du muscle et surtout pendant la maturation, s'accompagnant d'un accroissement peu significatif du phosphore organique thermostable dans le premier temps, suivi d'une nette diminution dans le deuxième temps.

2°/ Hydrolyse des phosphatides au cours du mélange par broyage des différents constituants.

Dans les chapitres suivants, nous nous sommes efforcés de vérifier la validité de ces résultats et de les interpréter.

CHAPITRE II

HYDROLYSE DES PHOSPHATIDES

La comparaison entre les chiffres de phosphore lipidique de la chair à saucisse, déterminés et calculés par C. COLETTE témoigne d'une certaine dégradation des phosphatides au cours du mélange des différents constituants :

mg de phosphore lipidique par gramme de matière sèche
de la chair à saucisse

1	2	3	4	5	6
pâte de taureau après maturation	pâte de bœuf	gras salé	ferment lactique	chair à saucisse	
				calculé (1+2+3+4)	déterminé
0,09 ₄	0,08 ₆	0,25 ₉	0,00 ₁	0,44 ₀	0,35 ₀

Il est étonnant qu'une nouvelle modification se produise dans les constituants déjà broyés, et notamment au sein des lipides intacts jusque-là. On peut penser à une exaltation de l'activité des enzymes du fait de la dilution, car le broyage se fait en présence d'eau; nous inclinerions plutôt à incriminer le nouveau constituant qui entre en jeu à ce niveau : le ferment lactique.

Ce dernier est introduit sous forme de poudre lyophilisée, à l'état de vie ralentie ou suspendue, et sa reprise de végétation a pour effet de transformer les viandes en faisant apparaître les arômes et les bouquets caractéristiques. En même temps qu'il protège la viande contre les accidents de fabrication, il maintient sa couleur naturelle et permet une maturation meilleure et plus rapide. L'activité considérable de ces ferments permet de se demander si ces derniers ne sont pas également capables de dégrader les phosphatides. C'est dans cette optique que nous avons essayé, au laboratoire, de reconstituer la chair à saucisse à partir d'un mélange en quantité voulue de pâte de taureau, pâte de bœuf, gras salé et ferments lactiques. Ces derniers ont été ajoutés par saupoudrage au cours du broyage au turmix.

I PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

D'après le schéma I, les constituants (1) et (2) sont obtenus respectivement à partir de taureau et de bœuf; pour simplifier les opérations, nous les avons, au laboratoire, préparés à partir d'un même animal (bœuf). Néanmoins, pour faciliter la compréhension de l'exposé, nous les appellerons : "pâte de taureau après maturation" et "pâte de bœuf"; ils ne diffèrent que par le traitement qu'ils ont subi :

- le premier a été broyé encore chaud, en présence d'eau et de sel et a subi une maturation de 48 heures à 4° C;
- le deuxième, après un séjour de plusieurs heures au froid, a été broyé en l'absence d'eau et n'a subi que 24 heures de maturation.

La pâte de bœuf n'étant pas hydratée, on peut considérer qu'elle absorbe en grande partie l'eau ajoutée lors du mélange des constituants; l'hypothèse faite plus haut d'une exaltation de l'activité des enzymes par dilution rendait donc nécessaire l'introduction de ce constituant (2).

Nous avons préparé :

- 1°/ une "chair à saucisse" obtenue par le mélange des constituants (1), (2) et (3) par broyage au turmix, en respectant les proportions du schéma I;
- 2°/ une "chair à saucisse" obtenue de la même façon, mais additionnée de ferments lactiques * au cours du broyage.

La dégradation des phosphatides, selon qu'elle se produirait au niveau du deuxième mélange seulement ou au niveau des deux mélanges en même temps pourrait être ou non attribuée aux ferments lactiques.

II TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

A. Extraction des lipides des constituants (1) et (2)

La même expérience par laquelle nous devions vérifier l'hydrolyse des phosphatides devait également nous servir à vérifier l'accroissement du phosphore acido-soluble thermolabile de la pâte de taureau; il était donc commode, pour ce constituant, d'utiliser la méthode d'extraction des lipides à froid selon SCHMIDT, TANNHAUSER, SCHNEIDER. Les lipides des constituants (1) et (2) ont été extraits par cette méthode qui est valable à condition de l'utiliser, comme c'est le cas ici, pour un matériel ne se distinguant pas par sa richesse en lipides.

B. Extraction des lipides du constituant (3) (gras salé) et de la chair à saucisse

A cause de la richesse en lipides de ces échantillons, la méthode à froid ne nous a pas paru indiquée. Nous avons utilisé la méthode azéotropique mise au point dans notre laboratoire (6). Les lipides du gras ont été extraits sur

* Nous remercions les Etablissements Proséca qui nous ont fourni les ferments lactiques.

des prises voisines de 1 g de matière sèche; ceux de la chair à saucisse, sur deux prises de 0,5 et 2 g.

L'échantillon est mis en suspension dans 10 ml d'eau chaude, puis dans un mélange de 50 ml d'éthanol et 200 ml de benzène. L'extraction par la méthode azéotropique dure environ une heure; le volume de la solution obtenue après filtration est ensuite réduit par évaporation sous vide. Le résidu contient, avec les lipides, des impuretés qui sont éliminées par deux purifications de FOLCH successives. A cet effet, le résidu est repris par un mélange composé de :

40 ml de chloroforme

20 ml de méthanol

15 ml d'eau.

La phase inférieure obtenue par décantation et soumise à une deuxième purification contient les lipides seuls.

Les lipides obtenus par l'une et l'autre des méthodes sont intégralement transvasés dans un kjeldahl de minéralisation. Après élimination des solvants et minéralisation, le phosphore des phosphatides est dosé par colorimétrie.

III RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

A. Matières sèches

Les matières sèches déterminées pour chaque constituant par dessiccation à 100°C jusqu'à poids constant représentent :

14,1 p. cent dans la pâte de taureau (1)

27,7 p. cent dans la pâte de bœuf (2)

96,5 p. cent dans le gras salé (3)

47,0 p. cent dans la chair à saucisse

Les ferments lactiques (4) sont introduits à l'état sec.

Or, pour cette fabrication, les constituants ont été introduits dans les proportions suivantes :

(1)	:	35,0 g	soit	4,94 g	de matière sèche
(2)	:	20,0 g	soit	5,54 g	" " "
(3)	:	35,0 g	soit	33,80 g	" " "
(4)	:	0,5 g	soit	0,50 g	" " "
eau	:	<u>10,0 g</u>	soit	<u>0,00 g</u>	" " "
		100,5 g		44,78 g	

Nous obtenons par le calcul une matière sèche de 44,78 g pour 100,5 g de chair à saucisse. La matière sèche calculée (44,5 p. cent) diffère donc sensiblement de la matière sèche déterminée (47,0 p. cent) : cette différence s'explique par les petites quantités sur lesquelles nous avons opéré.

B. Phosphore lipidique

Dans le tableau I, nous exprimons le phosphore lipidique en mg par g de la matière sèche du constituant considéré (colonne I) et en mg par g de matière sèche de la chair à saucisse (colonne II). Les chiffres de la colonne I sont déterminés, ceux de la colonne II sont calculés. Ils ont été obtenus en multipliant les chiffres de la colonne I relatifs aux constituants 1, 2 et 3, respectivement par les rapports :

$$\frac{4,94}{44,78} = 0,110 \quad (\text{pâte de taureau})$$

$$\frac{5,54}{44,78} = 0,123 \quad (\text{pâte de bœuf})$$

$$\frac{33,80}{44,78} = 0,755 \quad (\text{gras salé})$$

Nous avons systématiquement négligé l'apport des ferments lactiques.

TABLEAU I

Phosphore lipidique des constituants de la chair à saucisse

	I	II
Constituants	P / g de matière sèche des constituants	P / g de matière sèche de la chair à saucisse
(1)	0,88	0,097
(2)	0,79	0,097
(3)	0,04	0,030
		<u>0,224</u>

Nous trouvons par le calcul $0,22_4$ mg de phosphore dans la chair à saucisse. Or la détermination directe du phosphore lipidique de la chair à saucisse additionnée de ferments lactiques conduit au chiffre de $0,21_7$ mg/g.

Il n'y a donc pas eu de dégradation notable des phosphatides au cours du mélange des différents constituants; il était inutile de pousser plus loin nos investigations et d'analyser la chair à saucisse dépourvue de ferments lactiques.

IV DISCUSSION

Contrairement à notre attente, les phosphatides se sont intégralement conservés; nous ne retrouvons pas en effet, pour la chair à saucisse, l'écart observé par C. COLETTE entre les chiffres de phosphore lipidique déterminés et calculés. C. COLETTE ayant uniformément utilisé la méthode d'extraction à froid, nous sommes tentés d'attribuer cet écart à l'imprécision de cette méthode dans le cas de matériels riches en lipides comme le gras et la chair à saucisse. On ne saurait pourtant tirer de cette expérience une conclusion

définitive, la chair à saucisse ayant été fabriquée dans des conditions assez différentes dans les deux cas. Le gras utilisé au laboratoire était pratiquement du saindoux d'une constitution totalement différente de celle du gras utilisé dans la fabrication en usine comme on peut le voir ci-dessous :

	gras salé utilisé dans la fabrication en usine	gras salé utilisé au laboratoire
matière sèche en p. cent	75,3	96,5
P lipidique / g de matière sèche	0,37	0,04

Outre la pauvreté en phosphatides du gras que nous avons utilisé, on peut remarquer que son hydratation est négligeable. C'est là un facteur important : le gras étant introduit en quantité considérable, il en résulte que les conditions d'hydratation et par suite l'activité des ferments ont été différentes dans un cas et dans l'autre. D'autre part, l'opération de broyage a été faite au laboratoire sur de petites quantités : c'est donc une opération probablement plus rapide qu'à l'usine et pendant laquelle les ferments n'ont peut-être pas eu le temps d'agir. Enfin, à l'usine, les ferments lactiques sont ajoutés par saupoudrage au cours du broyage au cutter, qui est beaucoup moins radical qu'un broyage au turmix puisqu'il respecte la structure cellulaire. Si les ferments lactiques exercent une action enzymatique, l'éclatement de leurs cellules ne peut que la favoriser. Si ce n'est pas le cas, et si l'effet attendu tient à leur végétation et à leur multiplication, les cellules détruites ne peuvent plus exercer leur action d'organismes vivants. C'est donc une étude systématique qu'il faudrait entreprendre de l'influence éventuelle des ferments lactiques sur la dégradation des phosphatides.

CHAPITRE III

ACCROISSEMENT DU PHOSPHORE THERMOLABILE

I RAPPEL DES RÉSULTATS DÉJÀ OBTENUS

Le deuxième résultat inattendu observé par C. COLETTE est l'accroissement du phosphore thermolabile dans la pâte de taureau qui a subi 48 heures de maturation. Le tableau II rend compte de l'évolution du phosphore acido-soluble et nucléique au cours de ce traitement.

TABLEAU II

Répartition du phosphore dans les fractions acido-soluble et nucléique du muscle de taureau en mg de phosphore par gramme de matière sèche du muscle.

	Taureau chaud (I ₀)	Pâte de taureau (II ₀)	Pâte de taureau après maturation (III ₀)
Phosphore A.S. * total	5,45	5,55	5,56
Phosphore A.S. minéral	4,52	4,49	4,85
Phosphore A.S. minéral après hydrolyse	4,62	4,65	5,23
Phosphore A.S. organique thermolabile (par différence)	0,10	0,16	0,38
Phosphore A.S. organique thermostable (par différence)	0,83	0,90	0,33
Phosphore ribonucléique	0,76	0,56	0,58

* A.S. = acido-soluble

Les échantillons de "taureau chaud", "pâte de taureau" et "pâte de taureau après maturation" portent respectivement les numéros I, II, III, tout au long de l'exposé qui va suivre; ils sont ici affectés de l'indice 0 destiné à différencier entre elles les différentes expériences.

L'apparition de phosphore organique pendant le broyage paraît être la conséquence de la dégradation de l'ARN dont une partie (0,20 mg de phosphore sur 0,76, soit 26 p. cent) passerait dans l'acido-soluble sous différentes formes, plus particulièrement sous forme de phosphore organique thermolabile et thermostable; une partie de ce dernier semble donner naissance à du phosphore thermolabile au cours de la maturation. On expliquerait ainsi l'accroissement du phosphore thermolabile et la diminution corrélative du phosphore thermostable en fin de maturation. Comme la diminution du phosphore nucléique ne suffisait pas à expliquer l'accroissement du phosphore thermolabile, on avait supposé que le broyage analytique du muscle frais à 0°C dégrade déjà une partie de l'ARN initial en produits acido-solubles organiques eux aussi amenés au cours de la maturation, en partie au stade de composés hydrolysables et en partie au stade de phosphore minéral.

Il nous a paru intéressant de rechercher la nature du phosphore thermolabile qui apparaît pendant la maturation; mais auparavant, il fallait s'assurer qu'il s'agissait bien d'un phénomène réel et reproductible et non d'un artéfact du aux méthodes analytiques.

II REPRODUCTIBILITÉ DU PHÉNOMÈNE

En effet, le phosphore thermolabile est déterminé par différence entre le phosphore après hydrolyse et le phosphore minéral. Dans ces conditions, l'augmentation observée est assez petite pour être attribuée aux erreurs de dosages et seule la constance de la variation, observée toujours dans le

même sens pour 3 échantillons distincts, permettait d'attribuer quelque crédit à ces chiffres.

Avant d'entreprendre l'étude du phosphore thermolabile par des méthodes appropriées, nous avons tenu à vérifier si ce crédit était justifié : il s'agissait, en utilisant exactement les mêmes méthodes et des échantillons autant que possible comparables, de retrouver :

- 1° l'accroissement du phosphore thermolabile
- 2° la diminution du phosphore de l' ARN.

A. Préparation des échantillons

Nous avons essayé d'obtenir, dans les conditions du laboratoire de recherche, des échantillons correspondant à ceux qui avaient été prélevés à l'usine. Par raison de commodité, l'expérience a été réalisée sur du muscle de bœuf.

Dès que le bœuf abattu a perdu la plus grande partie de son sang, on prélève un morceau de collier dont une partie est immédiatement congelée dans l'azote liquide; nous appelons I_1 l'échantillon ainsi obtenu qui correspond au taureau "chaud".

L'autre partie, encore chaude et frémissante, est rapidement transportée au laboratoire où elle est apprêtée, coupée en petits morceaux et broyée au "turmix" en présence de glace et d'un mélange salin; une partie du broyat obtenu est immédiatement congelée et constitue l'échantillon II_1 correspondant à la "pâte de taureau"; (en réalité cet échantillon a été préparé dans des conditions assez différentes à l'usine et au laboratoire : le schéma I indique une température de 18°C en fin de broyage; au laboratoire, le broyage au turmix en présence de glace est extrêmement rapide, la température est de ce fait voisine de 4°C).

Nous évaluons à une heure environ le temps qui sépare l'obtention des échantillons I_1 et II_1 .

L'autre partie du broyat est congelée après 48 heures de maturation à 4° C; c'est l'échantillon III_1 comparable à la "pâte de taureau après maturation".

B. Méthodes d'extraction

Par souci d'homogénéité les séparations des composés phosphorés effectuées jusqu'ici, portaient sur des échantillons dégelés puis broyés à 0° C. On pensait en effet que si ce traitement était traumatisant au niveau du muscle initial, son action devait être négligeable pour des échantillons qui avaient été déjà broyés à 18° C et à plus forte raison pour ceux qui avaient subi 48 heures de maturation puis le traitement d'appertisation; dans cette optique, les avantages l'emportaient sur les inconvénients.

Puisque nous avons choisi de nous placer dans les mêmes conditions, les échantillons I_1 , II_1 et III_1 ont été dégelés et broyés à 0° C en présence d'une quantité d'eau permettant l'obtention d'un homogénat. Le broyat maintenu à 0° C pendant la durée des opérations sert en même temps aux prélèvements destinés à la détermination de la matière sèche et du phosphore total et à la séparation des composés phosphorés par groupes. Ce n'est donc pas immédiatement que se fait l'extraction de l'acido-soluble.

C. Résultats expérimentaux

Le tableau **III** permet de comparer la répartition des composés phosphorés acido-solubles et nucléiques à chacun des stades envisagés. Les résultats y sont exprimés en mg de phosphore par gramme de matière sèche du muscle.

TABLEAU III

Répartition du phosphore dans les fractions acido-soluble et nucléique du muscle en mg de phosphore par gramme de matière sèche du muscle.

	muscle initial (I ₁)	pâte (II ₁)	pâte après maturation (III ₁)
Phosphore A.S. total	6,53	6,54	6,59
Phosphore A.S. minéral	4,95	4,81	5,39
Phosphore A.S. minéral après hydrolyse	5,29	5,63	5,71
Phosphore A.S. organique thermolabile (par différence)	0,34	0,82	0,32
Phosphore A.S. organique thermostable (par différence)	1,24	0,91	0,88
Phosphore ribonucléique	0,67	0,67	0,60

Si le phosphore acido-soluble total est à 1 p. cent près le même pour les 3 prélèvements, la participation des différents composés phosphorés acido-solubles est modifiée :

— Le phosphore minéral, identique à 3 p. cent près dans le muscle initial et dans la pâte, augmente après maturation de 0,58 mg, soit de 12 p. cent.

— Le phosphore thermolabile a cru de façon significative dans la pâte puisqu'il est passé de 0,34 mg à 0,82 mg; la différence est supérieure à l'erreur expérimentale, bien qu'il s'agisse ici de chiffres calculés. Après maturation, on le retrouve pratiquement au taux initial. Il semble que le phosphore thermolabile qui apparaît dans la pâte est dégradé pendant la

maturation à l'état de phosphore minéral, car la diminution du premier est sensiblement égale à l'accroissement du second : 0,50 mg (0,82 - 0,32) pour 0,58 mg (5,39 - 4,81).

— Le phosphore thermostable passe de 1,24 mg dans le muscle à 0,91 mg dans la pâte; il subit donc un début de dégradation qui ne se poursuit pas pendant la maturation puisque nous retrouvons 0,88 mg de phosphore thermostable dans l'échantillon III₁.

Le phosphore nucléique ne subit de dégradation que pendant la maturation.

D. Discussion

Nous retrouvons dans cette expérience un accroissement paradoxal du phosphore thermolabile, mais il se situe au niveau du muscle broyé et là seulement. Il n'y a pas de variation simultanée de l'ARN. Toutefois, ces résultats ne sont pas en contradiction avec les premiers, si l'on admet que :

a) Le broyage analytique du muscle initial a dégradé l'ARN dans les mêmes proportions que le broyage menant de I à II. Cette similitude ne surprend pas puisque nous avons noté qu'au laboratoire le broyage conduisant à la pâte était rapide et se faisait à une température beaucoup plus basse qu'à l'usine.

b) Il s'est produit un décalage de temps de sorte que l'accroissement du phosphore thermolabile ne se situe plus au même niveau.

Il semble tout de même que dans ces deux expériences, nous soyons en présence d'un phénomène commun se traduisant par un accroissement paradoxal du phosphore hydrolysable.

III RÉALITÉ DU PHÉNOMÈNE

Par l'expérience précédente, nous vérifions, mais au niveau des chiffres seulement, que le phénomène observé par C. COLETTE n'est pas attribuable à l'erreur expérimentale. Il nous fallait encore vérifier qu'il avait une signification biologique; en d'autres termes, il fallait, en utilisant des méthodes appropriées, retrouver ce phénomène pour montrer qu'il ne s'agissait pas d'un artéfact du aux méthodes mises en œuvre et plus particulièrement au broyage analytique. Il importait, en effet, pour deux raisons de supprimer tout broyage analytique, quitte à obtenir des résultats plus disparates :

1) Nous nous proposons l'étude de l'accroissement du phosphore thermolabile pendant le broyage du muscle initial (I) conduisant à la pâte (II). La comparaison nécessaire entre ces deux échantillons rendait impérieuse la suppression du broyage analytique pour le premier.

2) Le phosphore thermolabile est par définition fragile, et à plus forte raison dans le muscle où il est en grande partie nucléotidique. Il ne faut donc pas le dégrader en cours d'analyse par un traitement aussi traumatisant que le broyage.

A. Techniques expérimentales

Les prélèvements I, II et III ont été obtenus comme précédemment avec toutefois la restriction que I et II proviennent de deux muscles distincts.

1) Les différents échantillons sont coupés au rasoir à l'état congelé, et pesés très rapidement; l'opération est assez rapide pour qu'il n'y ait pas d'exsudation. Après pesée, les échantillons sont immédiatement plongés dans l'acide trichloracétique et homogénéisés à l'ultra turrax; ce broyage, en présence d'acide, n'a rien de comparable avec le broyage analytique, car les protéines sont coagulées et par conséquent les enzymes détruits. Les échantillons analysés de cette façon ont été appelés I₃, II₃, III₃.

2) Afin de connaître la part du broyage analytique dans le phénomène, nous avons analysé les prélèvements I, II et III après broyage. L'échantillon est broyé à 0°C; on en prélève rapidement une quantité déterminée que l'on traite immédiatement par l'acide. Les échantillons analysés de cette façon ont été appelés I_2 , II_2 , III_2 parce qu'ils sont intermédiaires entre les échantillons d'indice 1 et ceux d'indice 3 (les premiers ont été broyés mais ont subi aussi un début d'autolyse car ils n'ont pas été traités immédiatement par l'acide).

B. Résultats expérimentaux

Nous donnons dans le tableau **IV** la répartition du phosphore acido-soluble dans les échantillons d'indice 3. Nous y avons ajouté le taux du phosphore total déterminé pour chaque échantillon, car il est supérieur dans les échantillons II et III, fait attribuable au manque d'homogénéité des prélèvements.

L'augmentation du phosphore acido-soluble de I à II correspond exactement à celle du phosphore total; elle n'est donc pas imputable à la dégradation des autres fractions phosphorées.

TABLEAU **IV**

Répartition du phosphore dans l'acido-soluble du muscle en mg par gramme de matière sèche du muscle

	muscle initial (I ₃)	pâte (II ₃)	pâte après maturation (III ₃)
Phosphore A.S. total	6,23	6,75	6,99
Phosphore A.S. minéral	3,33	2,25	5,02
Phosphore A.S. minéral après hydrolyse	4,64	3,99	5,43
Phosphore A.S. organique thermolabile (par différence)	1,31	1,74	0,41
Phosphore A.S. organique thermostable (par différence)	1,59	2,76	1,56
Phosphore total	7,76	8,28	8,30

De toute évidence, il n'est plus question d'attribuer ici les variations observées de I à II à une dégradation mais au contraire à un phénomène de synthèse :

1) Le phosphore minéral a diminué de 32 p. cent, variation énorme observée pour la première fois.

2) Le phosphore organique thermostable a cru de façon encore plus remarquable, de 1,59 mg à 2,76 mg, soit une augmentation de 74 p. cent.

3) L'accroissement du phosphore thermolabile se situe comme précédemment au niveau de la pâte; moins remarquable en valeur relative, il est sensiblement le même en valeur absolue (0,43 mg au lieu de 0,48 mg).

Tout se passe comme s'il y avait eu synthèse de I à II. Le broyage intervenant au niveau de II et que nous avons un moment rendu responsable de l'accroissement du phosphore thermolabile observé dans les premières expériences, ne peut que contrarier un tel phénomène. Seul le temps qui sépare l'obtention des échantillons I et II et pendant lequel les cellules sont vivantes puisque la viande se contracte, peut en être responsable.

Pendant la maturation, le phosphore thermostable est dégradé jusqu'à sa valeur initiale; le phosphore thermolabile est dégradé en même temps que du phosphore initialement présent, puisqu'on en retrouve seulement 0,41 mg après maturation.

Il semble que les techniques de broyage analytique utilisées jusque-là nous aient caché deux aspects du phénomène :

- la diminution du phosphore minéral
- l'accroissement du phosphore thermostable

encore qu'on retrouve des variations identiques mais très petites dans l'expérience d'indice 0.

A ce titre, il était intéressant de connaître la part du broyage dans l'observation du phénomène.

TABLEAU V

Répartition du phosphore dans l'acido-soluble du muscle (échantillons broyés en l'absence d'acide) en mg par gramme de matière sèche du muscle.

	muscle initial (I ₂)	pâte (II ₂)	pâte après maturation (III ₂)
Phosphore A.S. total	6,42	6,86	6,91
Phosphore A.S. minéral	4,13	2,95	5,43
Phosphore A.S. minéral après hydrolyse	5,10	4,42	5,77
Phosphore A.S. organique thermolabile (par différence)	0,97	1,47	0,34
Phosphore A.S. organique thermostable (par différence)	1,32	2,44	1,14

Ici encore, même avec des échantillons soumis à un broyage analytique, tout se passe comme si en II il y avait synthèse de phosphore organique thermolabile et thermostable aux dépens du phosphore minéral. Le phénomène est net bien que les chiffres obtenus témoignent d'une certaine dégradation par rapport aux précédents.

C. Discussion

Il est intéressant de remarquer que non seulement le phénomène de synthèse se retrouve dans les échantillons broyés mais encore que la différence $II_3 - I_3$ et $II_2 - I_2$ est la même au niveau des différents composés phosphorés acido-solubles comme cela apparaît dans le tableau VI.

TABLEAU VI

Variations du phosphore acido-soluble en mg par gramme de matière sèche
du muscle

	$II_3 - I_3$	$II_2 - I_2$
Phosphore A.S. minéral	- 1,08	- 1,18
Phosphore A.S. minéral après hydrolyse	- 0,65	- 0,68
Phosphore A.S. organique thermolabile (par différence)	+ 0,43	+ 0,50
Phosphore A.S. organique thermostable (par différence)	+ 1,17	+ 1,12

Cela signifie que :

a) Les différentes formes de phosphore acido-soluble sont détruites dans une certaine proportion fixe au cours du broyage analytique.

b) La ou les substances à phosphore thermolabile et thermostable qui sont élaborées dans II résistent intégralement au broyage analytique.

Par contre, nous avons vu que ces composés ne résistent pas à 48 heures de maturation à $4^{\circ} C$.

La comparaison des échantillons III_2 et III_3 montre enfin que le phosphore thermolabile résiduel est peu sensible au broyage analytique puisque nous en retrouvons 0,34 mg dans III_2 pour 0,41 dans III_3 . Par contre, le phosphore thermostable résiduel est partiellement dégradé par un tel broyage.

Il reste à rechercher quel est le lien existant entre l'expérience précédente et celle-ci dont le seul point commun est l'accroissement du phosphore thermolabile au niveau du prélèvement II (pâte).

On peut considérer que l'échantillon II_1 , à cause de son séjour à l'état broyé, se situe du point de vue de son état d'autolyse entre les échantillons II_2 et III_3 . Or à ce niveau, on observe encore l'accroissement du phosphore thermolabile, mais non celui du phosphore thermostable. Il faut donc admettre que ce dernier est autolysé plus rapidement que le phosphore thermolabile.

D. Conclusion

L'hypothèse selon laquelle au cours du broyage du muscle initial l'ARN est capable de se dégrader en libérant des substances polynucléotidiques est à écarter. Il semble qu'au niveau de la "pâte" (II), nous nous trouvions en présence d'un phénomène global de synthèse, apparent, dans les conditions du laboratoire, malgré le broyage qui intervient à ce niveau; cette "synthèse" doit se produire pendant le temps qui sépare la congélation du muscle initial (I) et celle de la "pâte" (II), temps que nous avons approximativement évalué à une heure.

Dans le laps de temps dont nous disposons pour approfondir ce phénomène, il n'était pas question d'établir la carte des composés phosphorés formés par ce processus. Nous nous sommes seulement attachés à l'étude du phosphore thermolabile qui en est l'unique manifestation nette et commune à toutes les expériences.

CHAPITRE IV

ÉTUDE DU PHOSPHORE THERMOLABILE

Cette étude porte sur les échantillons I₃, II₃ et III₃, censés refléter plus fidèlement que les autres l'état des composés phosphorés dans le muscle initial, la pâte, et la pâte après maturation. Le phosphore thermolabile qui apparaît dans II est relativement résistant et par conséquent n'a que peu de chances d'être dû à un polyphosphoryl nucléoside; cependant, sur un matériel tel que le muscle, nous avons jugé opportun de commencer cette étude par celle des nucléotides.

I ÉTUDE DES NUCLEOTIDES

A. Techniques expérimentales

Le fractionnement des nucléotides est obtenu à l'aide d'une colonne de résine échangeuse d'anions (7 - 48).

1° Préparation des échantillons

Un volume déterminé de l'extrait acido-soluble correspondant pour chaque échantillon à 0,75 g de matière sèche est réduit par lyophilisation jusqu'à 25 ml. L'acide trichloracétique est ensuite éliminé par 6 extractions à l'éther;

l'extrait obtenu dont le pH est compris entre 3,5 et 4,5 est immédiatement amené à pH = 8,5 avec de l'ammoniaque 0,26 N et percolé sur colonne. La température ne dépasse jamais 0°C au cours de ces manipulations.

2° Mode opératoire

Nous utilisons 30 g de résine anionique Dowex 1 X 10, 200 - 400 mesh, où l'ion chlorhydrique a été remplacé par l'ion formiate par un traitement approprié.

La résine est d'abord mise en suspension dans l'eau distillée, et la phase liquide est décantée après une demi - heure de repos; cette opération répétée plusieurs fois permet d'éliminer les particules plus fines qui surnagent. On verse ensuite la résine en suspension dans l'eau, dans un tube de 1,2 cm de diamètre intérieur, muni au fond d'un tampon d'ouate. Quand la résine s'est déposée par sédimentation, on la recouvre d'une nouvelle couche d'ouate.

— On percole une solution d'acide chlorhydrique 4 N qui amène la résine sous sa forme ionique Cl^- ; on laisse macérer une nuit, puis on lave encore pendant un quart d'heure à l'acide 4 N. L'excès d'ions Cl^- est éliminé par lavage à l'eau distillée.

— Les ions Cl^- sont déplacés par 200 ml de formiate de sodium 5 M. L'excès d'ions Na^+ est éliminé par lavage à l'eau distillée (200 ml).

— La résine est ensuite traitée par 200 ml d'acide formique concentré et lavée jusqu'à neutralité par de l'eau distillée. Elle est alors prête à l'emploi.

L'extrait acido-soluble est passé sous pression de telle façon qu'il s'écoule environ 1 ml par min. La pression est fournie par de l'air comprimé et maintenue constante grâce à un système régulateur à mercure (schéma II) On lave ensuite jusqu'à ce que l'effluent présente à 2600 Å une densité optique (D.O.) inférieure à 0,1. La colonne est enfin placée sur un collecteur

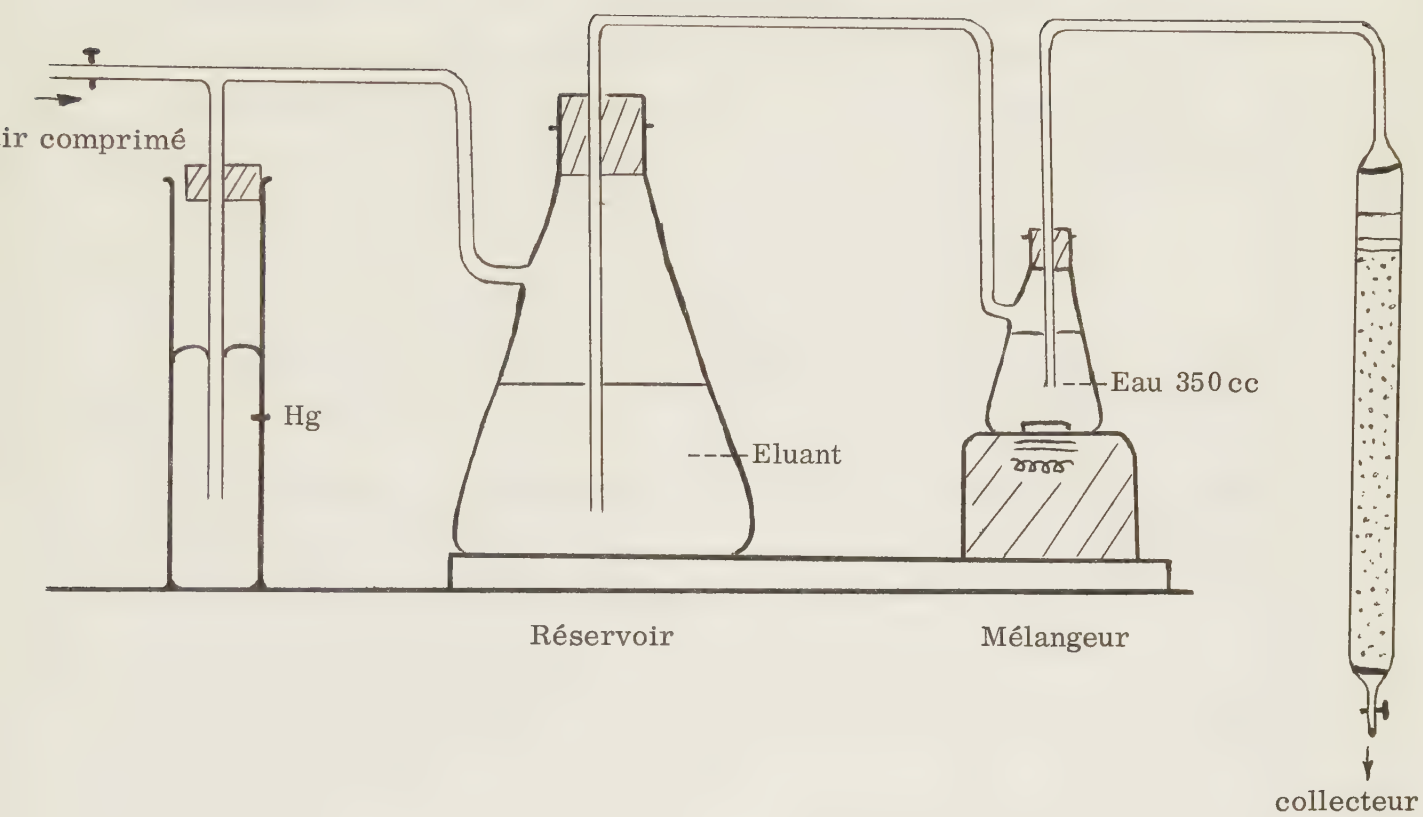


SCHÉMA II

automatique de fractions réglé sur base de temps pour débiter environ 8 ml par fraction.

L'élution progressive des nucléotides est obtenue par une solution présentant un gradient d'acidité et de concentration saline. Cette solution est réalisée grâce à deux fioles reliées l'une à l'autre : l'une dite "mélangeur" d'un volume de 350 ml contient initialement de l'eau distillée et est munie d'un agitateur magnétique; à cette fiole parvient soit de l'acide formique, soit un mélange d'acide formique et de formiate d'ammonium provenant d'une fiole appelée "réservoir" et qui contient successivement :

de 0 à 360 ml	HCOOH 0, 1 N
de 360 à 1320 ml	HCOOH 4 N
de 1320 à 1800 ml	HCOOH 4 N + HCOONH ₄ 0, 2 M
de 1800 à la fin	HCOOH 4 N + HCOONH ₄ 0, 8 M

Le mélangeur est directement relié à la colonne et l'ensemble est placé sous pression de sorte qu'il s'écoule environ 1 ml par min. Ce dispositif est représenté dans le schéma **II**.

3° Identification des nucléotides

La nature des résultats obtenus nous a permis de baser l'identification des nucléotides uniquement sur :

— l'ordre d'apparition des substances (les nucléotides sont élués dans l'ordre C, A, G, U* au sein de chacun des groupes de nucléosides mono-, di- ou triphosphates);

— les données spectrophotométriques : la densité optique de chaque fraction est mesurée à 2600 Å au spectrophotomètre Jobin Yvon; ces mesures servent à établir une courbe d'absorption en fonction du volume d'éluant écoulé. Nous appelons pics les différents accidents présentés par la courbe.

* Nucléotides de la cytidine, de l'adénine, de la guanine, de l'uracile.

Les fractions constitutives d'un pic sont réunies et débarrassées par lyophilisation de l'acide formique qu'elles contiennent et qui absorbe de 2200 à 2500 Å. On peut alors mesurer la D.O. de l'extrait de 2200 à 2900 Å et établir les spectres caractéristiques. Les rapports $\frac{D.O. 2800}{D.O. 2600}$ $\frac{D.O. 2750}{D.O. 2600}$ et $\frac{D.O. 2500}{D.O. 2600}$ permettent en première approximation de déterminer la nature de la base du nucléotide présent dans une fraction (tableau **VII**).

TABLEAU **VII**

Caractéristiques spectrales des nucléotides

	$\frac{D.O. 2800 A}{D.O. 2600 A}$		$\frac{D.O. 2750 A}{D.O. 2600 A}$		$\frac{D.O. 2500 A}{D.O. 2600 A}$	
	pH 2	pH 7	pH 2	pH 7	pH 2	pH 7
Nucléotides de l'adénine	0,22	0,16	0,43	0,40	0,85	0,79
Nucléotides de la cytosine	2,10	0,98	2,00	1,20	0,45	0,84
Nucléotides de l'uracile	0,38	0,39	0,64	0,64	0,73	0,73
Nucléotides de la guanine	0,67	0,66	0,69	0,75	0,96	1,17
IMP	0,25		0,43		1,68	
DPN - TPN	0,30		0,48			

B. Résultats expérimentaux

Les courbes d'absorption I, II et III sont établies respectivement pour 0,75 g des échantillons I₃, II₃ et III₃. Afin de conserver la même échelle pour chacune d'elles, nous avons supprimé certaines parties de courbe dépourvues de nucléotides (pointillé). Comme nous désirions seulement étudier la variation des nucléotides prédominants, nous avons négligé les petits accidents de la courbe pour nous attacher à l'étude des pics prédominants

dus aux nucléotides de l'adénine (les nucléotides à G, C et U n'existent qu'en quantité négligeable).

- La courbe **I** présente deux pics dus à l' AMP et à l' ADP.
- Ces pics se retrouvent dans la courbe **II**; celui d' AMP est plus petit que précédemment.
- Dans la troisième courbe, le pic d' AMP a nettement diminué; il apparaît un nouveau pic du à l'inosine.

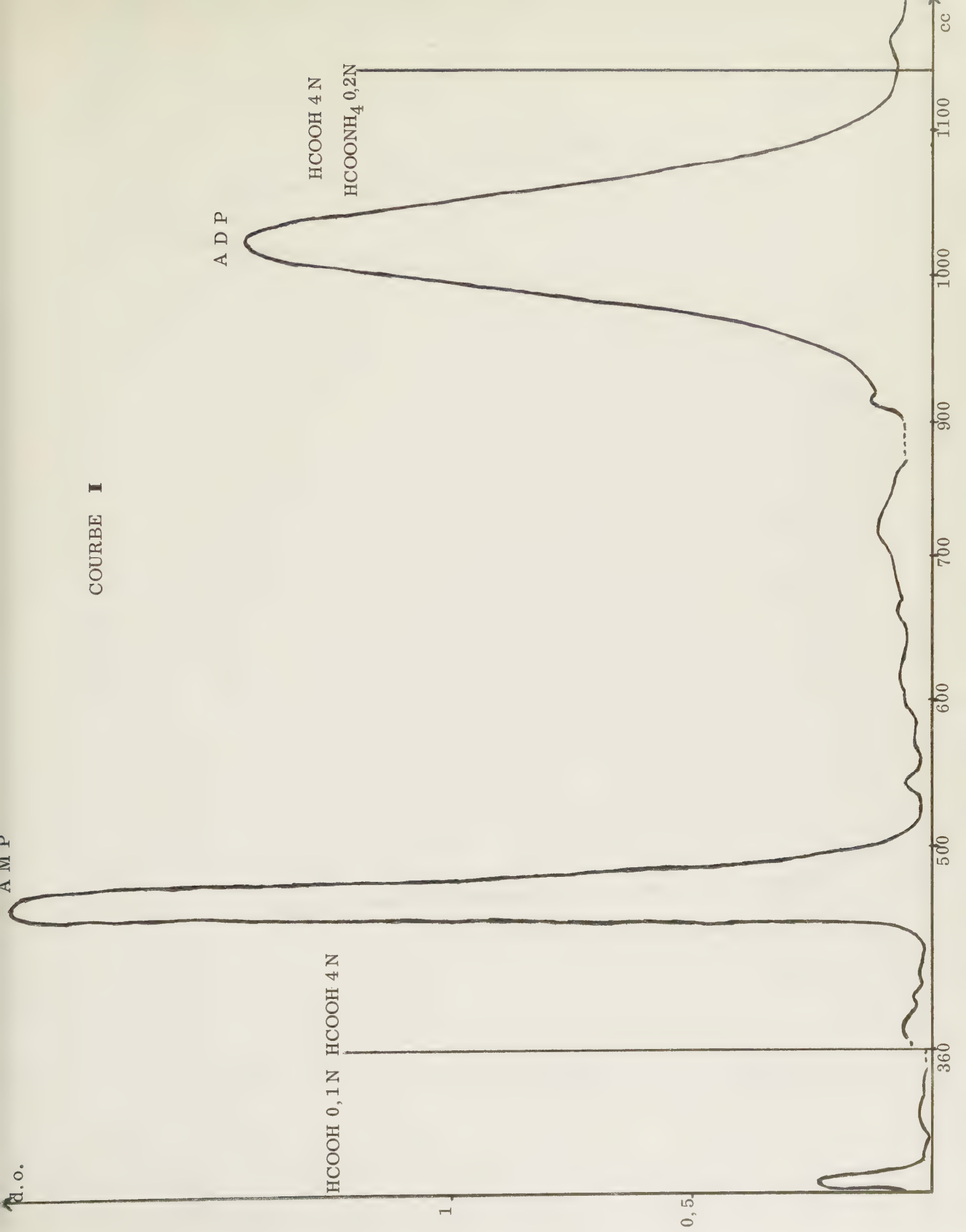
Nous avons dans le tableau **VIII** calculé les concentrations molaires des différents nucléotides contenus dans chaque échantillon.

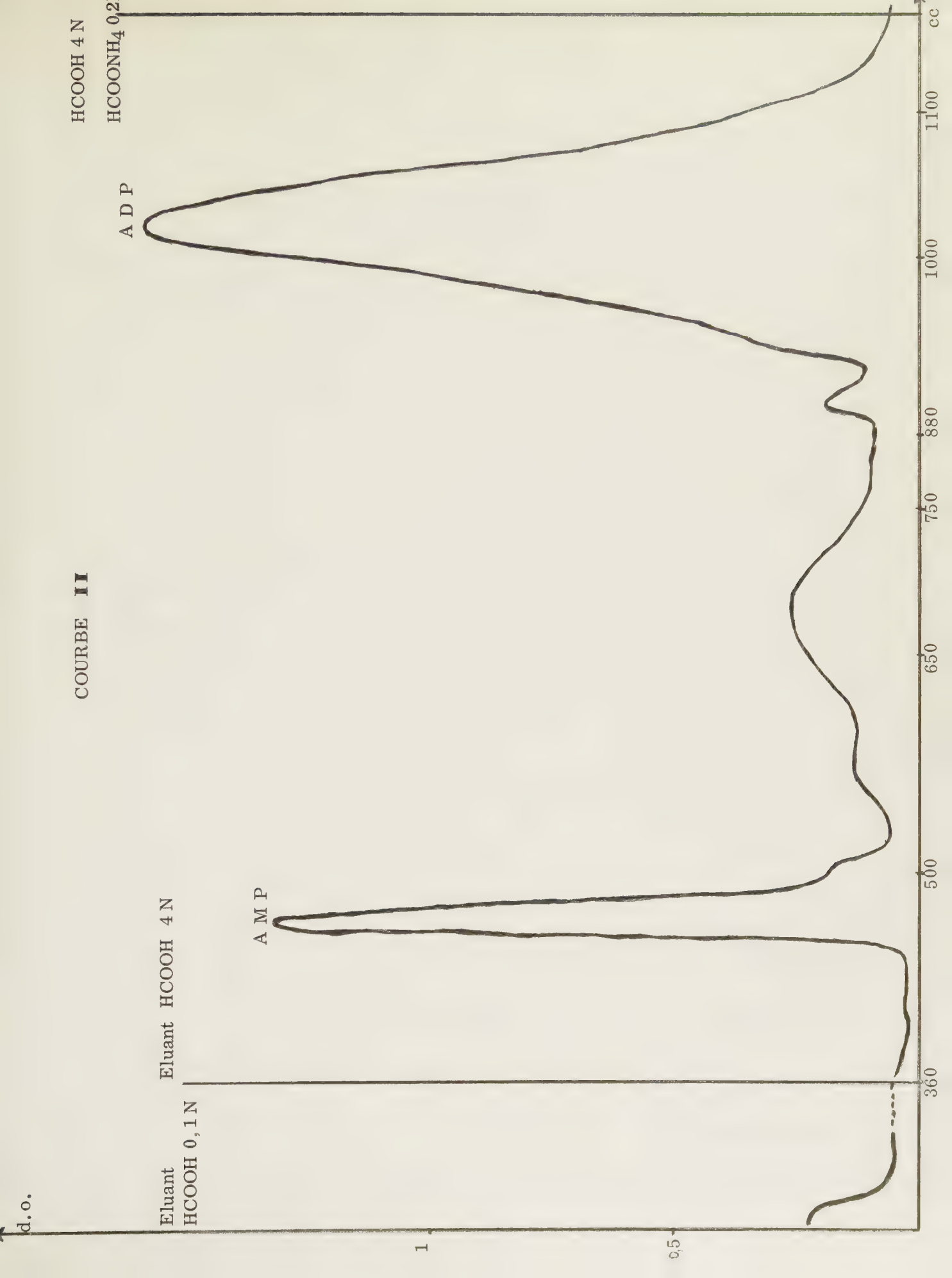
TABEAU **VIII**

Répartition des nucléotides dans l'acido-soluble du muscle en micro-moles par gramme de matière sèche du muscle.

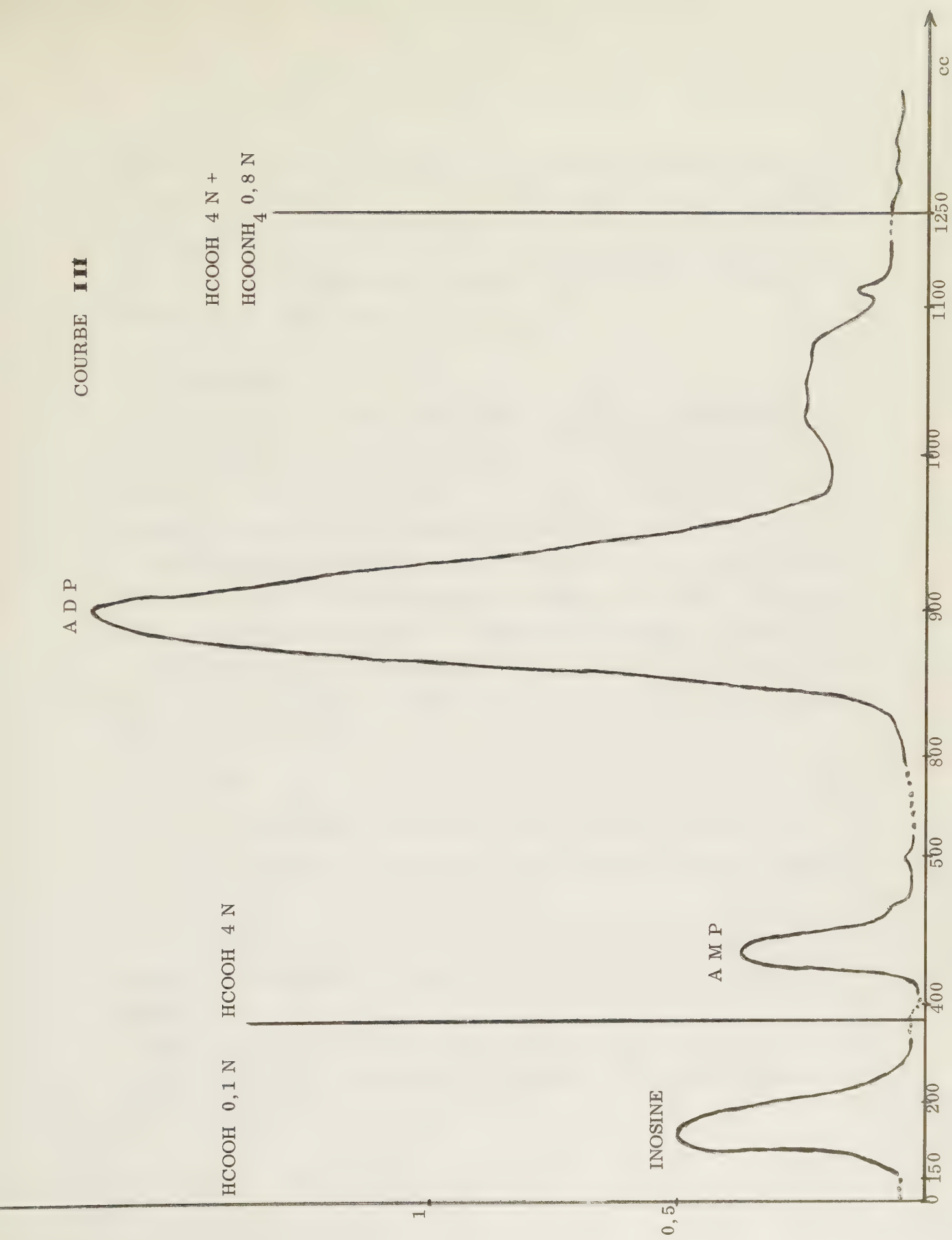
	I ₃	II ₃	III ₃
Inosine	0,0	0,0	3,5
AMP	5,1	3,1	1,0
ADP	12,2	15,3	13,4
Total	17,3	18,4	17,9

L'inosine, l' AMP, l' ADP doivent se retrouver au total à la même concentration molaire dans les différents échantillons; la différence maximale de 17,3 micro-moles à 18,4 provient de l'erreur commise sur le volume des fractions recueillies; elle est assez petite pour affirmer que dans





COURBE **III**



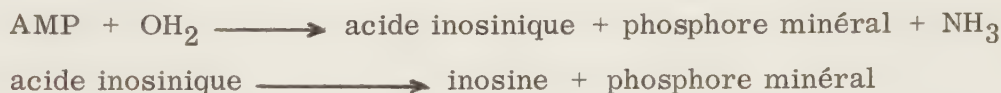
l'échantillon II₃, l'ADP a cru (de 12,2 à 15,3 micro-moles) aux dépens de l'AMP qui diminue (de 5,1 à 3,1 micro-moles). Pendant la maturation, l'ADP ne subit qu'une très légère dégradation puisque nous en retrouvons encore 13,4 micro-moles dans l'échantillon III₃. L'AMP au contraire a été dégradé à l'état d'inosine.

C. Discussion

L'ATP est partout absent, même dans l'échantillon représentatif du muscle initial. Ceci implique que cet échantillon est déjà dégradé, soit que la congélation n'ait pas été assez rapide vu la quantité de viande utilisée, soit que le temps qui sépare la mort de l'animal du prélèvement ait été trop long.

La transformation d'une petite quantité d'AMP en ADP dans l'échantillon II₃ va dans le sens des résultats obtenus à ce niveau c'est à dire : l'accroissement du phosphore thermolabile et la diminution du phosphore minéral.

Pendant la maturation, on note avec étonnement que l'ADP est presque intégralement conservé; la dégradation d'AMP en inosine se fait très probablement par la voie :



En effet, l'autolyse du muscle par écrasement du tissu musculaire libère de l'ammoniac (49).

Ce phénomène va aussi dans le sens de l'accroissement du phosphore minéral et de la diminution du phosphore thermolabile observés pendant la maturation.

Dans le tableau **IX** nous montrons quelle est la contribution des nucléotides adényliques au phosphore thermolabile et au phosphore thermostable.

TABLEAU IX

Contribution des nucléotides adényliques au phosphore organique thermolabile et thermostable en mg de phosphore par gramme de matière sèche du muscle.

	Phosphore A.S. organique thermolabile		Phosphore A.S. organique thermostable	
	total	du à l'ADP	total	du à AMP + ADP
I ₃	1,31	0,38	1,59	0,54
II ₃	1,74	0,47	2,76	0,57
III ₃	0,41	0,41	1,56	0,44

Dans les échantillons I₃ et II₃ moins du tiers du phosphore thermolabile est apporté par l'ADP; après maturation (échantillon III₃) le phosphore thermolabile provient uniquement de l'ADP.

L'ADP et l'AMP fournissent également moins du tiers environ du phosphore thermostable des échantillons I₃ et III₃; leur apport est beaucoup plus faible (0,57 mg pour 2,76 mg) dans l'échantillon II₃ au niveau duquel intervient l'accroissement du phosphore thermostable.

D. Conclusion

La variation du taux de nucléotides adényliques de I à II rend compte qualitativement du phénomène de synthèse mis en évidence par les dosages de phosphore. Quantitativement, la participation des nucléotides au phosphore thermolabile est relativement faible au niveau de ces deux échantillons (1/3 environ); elle est exclusive au niveau du troisième.

Nous avons recherché la présence de polyphosphates dans les échantillons I_3 et II_3 afin d'expliquer la provenance des $2/3$ du phosphore thermolabile non nucléotidique présent à ce niveau.

II ÉTUDE DES POLYPHOSPHATES

Pour la caractérisation des polyphosphates en milieu biologique, nous utilisons les travaux de MULLER et EBEL (50) sur les champignons.

A. Techniques expérimentales

1° Principe

La technique de précipitation des polyphosphates par les sels de baryum à pH 2,0 et 4,5 a été décrite par EBEL (51). A pH 2,0 on ne précipite que les polyphosphates de longueur de chaîne voisine de 10 groupement PO_3 et les polyphosphates plus condensés; entre pH 2,0 et 4,5 on précipite les oligophosphates entre le pyro- et le décaphosphate.

Pour la redissolution du précipité on utilise un échangeur cationique (Amberlite IR 100 H). Les solutions obtenues sont ensuite analysées par chromatographie sur papier (52). Les taches sont révélées par la méthode de HANES et ISHERWOOD basée sur la formation de phosphomolybdate (53). D'après EBEL (52) on peut aussi utiliser $SO_4 H_2$ dilué pour dissoudre le précipité de polyphosphates de baryum, mais nos essais en solution pure ont montré que cet acide inhibe la formation de phosphomolybdate et ne permet pas la révélation des taches par la méthode de HANES et ISHERWOOD.

2° Mode opératoire

Comme seule l'existence de polyphosphates nous préoccupait, nous avons choisi de les précipiter globalement à pH 4,5. Une partie aliquote des échantillons I_3 et II_3 correspondant à 1,5 g de matière sèche

(c'est à dire à 1,5 mg au minimum de phosphore thermolabile non nucléotidique) est réduite par évaporation au réfrigérateur, jusqu'à 25 ml et lavée 6 à 7 fois par une quantité suffisante d'éther pour extraire l'acide trichloracétique. Le pH est ensuite ajusté à 4,5 exactement, à l'aide d'une petite quantité de soude normale (le milieu est fortement tamponné). On ajoute alors 2 ml d'une solution saturée de $BaCl_2$ et on laisse reposer au réfrigérateur pendant une nuit. Nous n'observons pas de précipité dans ces conditions.

B. Résultats expérimentaux

L'absence de précipité dans les conditions de précipitation des polyphosphates permet de conclure que le phosphore thermolabile n'est pas du à ces derniers. Nous avons tenu à vérifier ce résultat, c'est à dire à vérifier que dans les mêmes conditions, une quantité de polyphosphates de l'ordre de grandeur du phosphore thermolabile non nucléotidique donnait lieu à une précipitation par $BaCl_2$ à pH 4,5. L'expérience a été refaite exactement dans les mêmes conditions, sur une prise de l'échantillon I_3 correspondant à 1,5 g de matière sèche et additionnée de 1,5 mg en phosphore de pyrophosphate; on obtient un précipité caractéristique.

C. Conclusion

Au cours de nos expériences nous avons trouvé un écart considérable entre le phosphore thermolabile total et le phosphore nucléotidique qui n'en représente que le tiers. Nos expériences démontrent l'absence de polyphosphates ou du moins - s'ils existent - leur présence en quantité insuffisante pour justifier cet écart.

Quelle est la substance ou quelles sont les substances responsables du phosphore thermolabile ?

Peut-être s'agit-il d'un des nombreux phosphagènes du muscle dont la caractérisation peut être intéressante dans la mesure où le phénomène observé est généralisable. Dans cette optique, un travail est poursuivi, sur le lapin qui se prête mieux que le bœuf à des expériences de laboratoire.

DEUXIÈME PARTIE

CAS DES PETITS POIS

Il ne s'agit plus ici de fabrication, mais d'une simple conserve du produit naturel. Parallèlement à ce qui a été fait pour la saucisse, nous avons étudié la répartition des composés phosphorés dans les pois au cours des deux étapes industrielles de leur préparation :

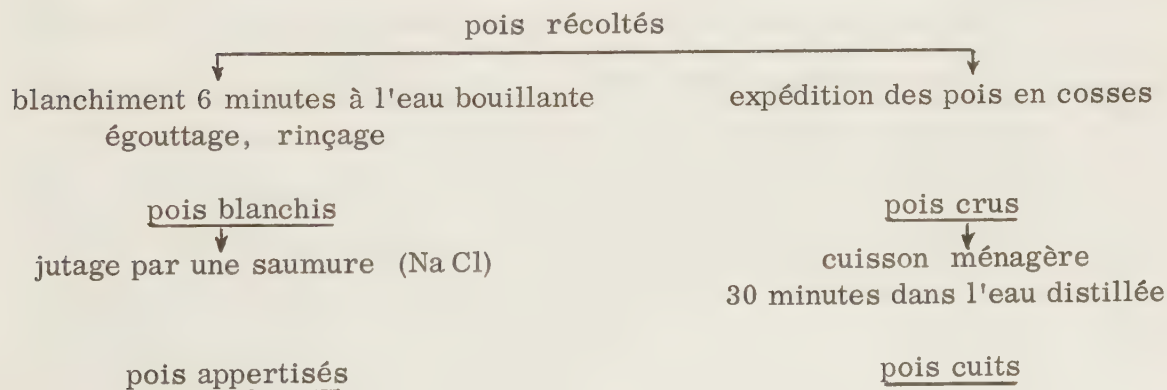
- pois blanchis 6 minutes puis égouttés
- pois appertisés.

En outre, nous avons recherché si le transport des pois, tel qu'il est effectué en vue de la vente sur le marché, et leur cuisson ménagère, aboutissaient à un produit comparable aux pois appertisés quant à la répartition du phosphore.

Nous avons analysé, à l'état cru et après cuisson, des pois en cosse provenant d'Orléans et expédiés sans précautions spéciales; comme le calibrage des pois est impossible dans les conditions du laboratoire, nous avons opéré sur une quantité de pois suffisante pour obtenir un échantillon représentatif. C'est sur un lot des mêmes pois non calibrés que le blanchiment et l'appertisation ont été effectués à l'usine.

Ces différentes opérations sont résumées dans le schéma II

SCHÉMA II



CHAPITRE I

TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

Appliquée à ce matériel végétal la séparation par groupes des composés phosphorés nécessite quelques modifications. De plus, au dosage des différents composés phosphorés effectué sur la saucisse, il convenait d'ajouter celui de la phytine, dont la présence, caractéristique du règne végétal, est massive chez les petits pois.

I SÉPARATION PAR GROUPES DES COMPOSÉS PHOSPHORÉS

Sur ce matériel végétal peu riche en lipides, l'extraction de la fraction acido-soluble par l'acide trichloracétique à 10 p. cent, à 0°, se fait sans difficulté. Le mélange alcool-éther (3 v / 1 v) utilisé ensuite, extrait les lipides et en même temps les pigments verts qui coloraient le culot de centrifugation. L'insoluble est mis à digérer dans la potasse normale à 37°, pendant 18 heures; la solubilisation est très incomplète, rendant plus délicate la floculation de l' ADN et des protéines en vue de l'isolement de l' ARN. Le travail est cependant facilité car le floculat ne se redissout pas à la goutte près, le milieu étant sans doute fortement tamponné par les protéines présentes.

La principale difficulté est le dosage du phosphore minéral acido-soluble, par colorimétrie directe : l'extrait acido-soluble est en effet extrêmement trouble et coloré, aussi bien pour le jus que pour les pois. Nous avons résolu cette difficulté en filtrant l'extrait sur de la cellulose préalablement traitée, car le passage d'acide trichloracétique à 10 p. cent sur la cellulose commerciale entraîne du phosphore.

La cellulose est traitée pendant une demi-heure par de l'acide chlorhydrique bouillant, puis lavée à l'eau distillée jusqu'à élimination des ions chlorures. La filtration de l'extrait acido-soluble se fait sous vide; on intercale trois ou quatre filtres (Durieux, bande verte), et on fait d'abord passer 50 ml d'acide trichloracétique à 10 p. cent. L'opération est alors rapide, le filtrat de l'extrait acido-soluble est limpide et on ne constate pas de rétention ni de libération de phosphore dans ces conditions.

C'est sur ce filtrat que nous dosons le phosphore minéral et le phosphore thermolabile hydrolysé en milieu N en acide sulfurique, 7 minutes à 100°.

II DOSAGE DE LA PHYTINE

L'acide phytique ou acide inositolhexaphosphorique renferme la majeure partie du phosphore organique des végétaux. Il existe dans la nature sous forme saline, et le mot phytine est un terme général désignant ces différents sels. Le sel supposé le plus fréquent chez les végétaux est le sel mixte de calcium et de magnésium, de formule $C_6H_6O_{24}P_6Mg_3Ca_3$.

A. Séparation de la phytine basée sur ses propriétés complexantes

Les méthodes de dosage chimique des phytates utilisent les propriétés complexantes de ces corps, propriétés dues à l'accumulation et à la proximité des groupes phosphoryles dans une molécule de poids relativement peu élevé.

Les phytates donnent avec les sels de métaux lourds des complexes insolubles en milieu acide.

Le plus souvent la séparation de la phytine est basée sur la méthode proposée par Mc CANCE et WIDDOWSON (54) et YOUNG (55) : la phytine est isolée à l'état de phytate ferrique à partir d'un extrait acido-soluble. La précipitation par le perchlorure de fer n'est pas spécifique des inositols hexaphosphates et de plus, la phytine ne précipite quantitativement que sous certaines conditions, encore mal définies, de concentration en acide et en fer. La fraction ainsi isolée ne correspond donc qu'approximativement à la phytine. Selon les récents travaux d' ANDERSON (56) et ceux de F. GONDARD (57), il existe plusieurs valeurs du rapport Fe / P pour lesquelles la précipitation est satisfaisante dans un milieu d'acidité bien déterminée; toujours selon ANDERSON, les conditions optimales de précipitation dépendent du matériel.

Devant une telle complexité, nous avons essayé de mettre au point un dosage de la phytine approximatif mais suffisamment reproductible pour permettre la comparaison des résultats entre eux et pour mettre en évidence une éventuelle dégradation au cours des différents traitements.

Nous avons comparé la floculation du phytate ferrique en solution pure, en opérant en milieu chlorhydrique $N / 6$ comme le préconise YOUNG et en milieu trichloracétique à 10 p. cent qui est celui de la préparation de notre acido-soluble. Elle est moins satisfaisante en milieu trichloracétique car le précipité se sépare mal. Toutefois, dans le cas des petits pois, nous avons pu utiliser l'extrait trichloracétique : dans ce milieu biologique complexe, nous n'avons pas rencontré les mêmes difficultés de floculation que dans l'étude des solutions pures de phytine.

La phytine isolée peut être dosée :

— soit indirectement par un dosage colorimétrique du fer contenu dans le précipité de phytate ferrique;

— soit directement par un dosage colorimétrique du phosphore contenu dans le même précipité.

Le principal inconvénient des dosages de fer réside dans la difficulté d'établir avec exactitude un facteur de conversion fer-phosphore, ce qui entraîne une cause d'erreur supplémentaire. Le rapport atomique Fe / P du précipité de phytate ferrique saturé est $4/6$, ce qui correspond à un facteur gravimétrique théorique de 1,2. Mais nous avons vu que la composition de ce précipité était fluctuante, et fonction de la nature et de l'acidité du milieu. De plus, l'entraînement inévitable d'impuretés phosphorées (esters phosphoriques inférieurs de l'inositol, phosphates) contribue à modifier le rapport atomique Fe / P global, donc le facteur gravimétrique.

La méthode directe ne comporte pas ces inconvénients; c'est celle que nous avons adoptée.

Réactifs

- FeCl_3 à 1,6 g environ de fer par litre dans HCl N/6
- HCl N/6
- Soude normale.

Mode opératoire

Une partie aliquote de l'extrait trichloracétique correspondant à 0,5 à 1 g environ de matière sèche c'est à dire à 1,2 à 2,5 g de P phytinique (quantité pour laquelle la floculation est satisfaisante dans les conditions décrites) est additionnée dans un tube de centrifugeuse en pyrex de 5 ml de la solution de chlorure ferrique ajoutés goutte à goutte, très lentement; en même temps, on gratte énergiquement les parois avec un agitateur. L'opération dure une demi-heure environ. D'après COLIN (58) c'est seulement dans ces

conditions que la floculation peut être complète. On plonge le tube dans un bain-marie bouillant pendant 10 minutes et on continue à frotter les parois. Le tube est alors refroidi dans de la glace pendant 10 minutes. La floculation est satisfaisante dans ces conditions. Le précipité de phytate ferrique est recueilli par centrifugation suivie de décantation, lavé une fois avec de l'acide chlorhydrique N/6 et remis en suspension dans 5 ml d'eau bouillante. Par addition de 2 ml de soude N, l'hydroxyde ferrique précipite tandis que le phytate de sodium passe en solution. On les sépare par filtration; une colorimétrie après minéralisation du filtrat nous donne le phosphore phytinique.

Il peut être utile de déterminer par une colorimétrie directe sur le filtrat acidifié, le phosphore minéral éventuellement précipité avec la phytine, et de le soustraire du phosphore que nous avons appelé phytinique. A l'inverse du cas étudié par F. GONDARD (57), dans le cas qui nous préoccupe, cette correction est inutile : le phosphore minéral, présent en faible quantité initialement, est en quantité négligeable dans la solution de phytate de sodium obtenue.

B. Séparation de la phytine basée sur ses propriétés de solubilité

Cette séparation, mise au point par MONTOLIAK (59), permet de connaître très approximativement le taux de phytine et par suite de déterminer le rapport Fe / P propice à la précipitation de la phytine par la méthode précédente. Enfin il est intéressant de comparer les résultats obtenus par deux méthodes dont le principe est tout à fait différent et dont aucune n'aboutit à un dosage rigoureux.

L'extraction de la phytine se fait ici par l'acide chlorhydrique à 20 p. cent, sur un échantillon délipidé et déminéralisé. A cet effet, un broyat de petits pois est traité par l'alcool pendant 5 minutes, avec agitation mécanique. Après centrifugation, le culot est repris par un mélange alcool-éther (3 v / 1 v).

Les surnageants rassemblés contiennent la fraction lipidique. Le culot de centrifugation est alors repris par de l'alcool contenant 0,2 p. cent d'acide chlorhydrique qui extrait les matières minérales solubilisables. Après séparation du surnageant par centrifugation, le résidu est traité par de l'acide chlorhydrique à 20 p. cent. Nous obtenons la fraction "organique" soluble qui correspond grossièrement à la phytine.

III APPLICATION DE CES TECHNIQUES A L'ÉTUDE DES POIS APPERTISÉS

Nous avons appliqué ces techniques à l'étude d'une boîte de petits pois mi-fins provenant de la même origine que la matière première.

A. Préparation des échantillons

Le jus (228 ml) séparé des pois se présente sous la forme d'un liquide jaunâtre, trouble et visqueux, chargé de particules. Les pois égouttés pèsent 636 g.

Une quantité connue de pois est broyée à 0°C au turmix, en présence d'une quantité d'eau adéquate (40 ml environ pour 100 g de pois). L'homogénat obtenu sert à la détermination des matières sèches (obtenues par dessiccation à 100° jusqu'à poids constant) et à la séparation par groupes des composés phosphorés.

Pour le jus, la matière sèche est déterminée sur des prises de 10 à 20 ml; la séparation des composés phosphorés porte sur 20 ml.

Les pois ont une matière sèche de 26,7 p. cent, soit au total 170 g. Le jus contient 88 mg de matière sèche par ml, soit au total, 20 g.

B. Résultats expérimentaux

Afin de montrer la reproductibilité des résultats, nous donnons dans le

tableau I, les chiffres obtenus pour les pois sur 4 prélèvements distincts.
Le phosphore est exprimé en mg par g de matière sèche des pois.

TABLEAU I

Répartition du phosphore dans les petits pois appertisés en mg de phosphore
par gramme de matière sèche des pois

	1	2	3	4	moyenne
Phosphore A.S. minéral	0,65	0,65	0,64	0,66	0,65
Phosphore A.S. hydrolysé	0,73	0,70	0,70	0,72	0,71
Phosphore A.S. thermolabile	0,08	0,05	0,06	0,06	0,06
Phosphore A.S. phytinique	1,85	1,85			1,85
Phosphore A.S. total	3,12	3,11	3,00	3,15	3,09
Phosphore lipidique	0,42	0,41	0,43	0,43	0,42
Phosphore nucléique (P ARN	0,58	0,60	0,58	0,59	0,59
(P ADN	0,04	0,02	0,03	0,03	0,03
Phosphore résiduel	0,05	0,03	0,04	0,04	0,04
Total	4,21	4,17	4,08	4,24	4,17
Phosphore total (mesure directe)	4,14	4,23	4,16	3,96	4,12

Si l'on exclut les chiffres relatifs au phosphore de l'ADN et au phosphore résiduel qui ne sont pas significatifs, l'erreur maximale entre les 4 échantillons, au niveau de chaque fraction, n'excède jamais 5 p. cent, de l'ordre de l'erreur colorimétrique.

L'identité des chiffres de phosphore phytinique obtenus pour les prélèvements I et 2 témoigne de la reproductibilité de la méthode adoptée; la phytine n'a pas été dosée dans les échantillons 3 et 4 en raison de la durée du procédé et de l'homogénéité des résultats déjà obtenus.

Les chiffres du phosphore de l' ARN sont eux-mêmes en bonne coïncidence malgré la difficulté que nous avons relevée au niveau de la séparation de cette fraction.

L'analyse du jus est également satisfaisante; nous ne donnerons pas le détail des résultats. Le phosphore du jus étant totalement acido-soluble, nous donnons à titre indicatif les valeurs obtenues pour cette fraction :

mg de phosphore par gramme de matière sèche du jus

P minéral	P minéral hydrolysé	P thermolabile	P phytinique	P total
2,47	2,75	0,28	4,58	9,59

Le phosphore phytinique des pois représente 35 p. cent du phosphore contenu dans la boîte; la méthode de MONTOLIAK conduit au chiffre de 37 p. cent. Bien que ces deux chiffres aient été obtenus sur deux boîtes distinctes, la comparaison est permise; il s'agissait, en effet, dans les deux cas de petits pois mi-fins provenant des mêmes établissements.

Nous avons lieu de considérer notre mode opératoire comme satisfaisant et d'appliquer la technique ainsi décrite à l'étude des pois à différentes étapes de leur préparation.

CHAPITRE II

VARIATIONS DE LA RÉPARTITION DES COMPOSÉS PHOSPHORÉS AU COURS DE LA PRÉPARATION DES PETITS POIS

Nous avons comparé l'influence de la préparation industrielle et ménagère des petits pois sur la répartition des composés phosphorés. Comme les petits pois appertisés sont destinés à être conservés, nous avons également recherché l'influence du temps de conservation.

I INFLUENCE DE LA CUISSON MÉNAGÈRE SUR LA RÉPARTITION DES COMPOSÉS PHOSPHORÉS DANS LES POIS

A. Préparation des échantillons

Les gousses récoltées au mois de juillet dans la région d'Orléans ont été expédiées sans précautions spéciales; à la réception, nous écossons une quantité de pois suffisante pour obtenir un échantillon représentatif; nous évitons ainsi le calibrage des pois.

300 g de pois écosés sont immédiatement broyés au turmix, à 0° C, en présence de 125 ml d'eau; l'homogénat obtenu sert à la détermination

des matières sèches et à la séparation par groupes des composés phosphorés.

Presque simultanément, 300 g des mêmes pois sont jetés dans 1250 ml d'eau distillée bouillante; au bout d'une demi-heure de cuisson, les pois et le jus sont séparés et conservés au réfrigérateur jusqu'au moment de leur analyse, soit pendant trois jours pour les pois et un mois pour le jus. L'analyse des pois est faite dans tous les cas sur un échantillon broyé en présence d'une quantité d'eau adéquate (ici : 85 ml pour 300 g de pois cuits).

B. Matières sèches

Après cuisson, les pois égouttés pèsent 352 g; le volume du jus est 593 ml.

La matière sèche est de 31,2 p. cent dans les pois frais (93,6 g pour 300 g) et de 22,9 p. cent dans les pois cuits (80,6 g pour 352 g de pois cuits provenant de 300 g de pois frais).

Le jus contient 21,08 mg de matière sèche par ml, soit 12,5 g pour 593 ml.

La matière sèche des pois cuits (80,6 g) additionnée de celle du jus (12,5 g) est égale, à l'erreur expérimentale près, à la matière sèche de la quantité correspondante de pois frais (93,6 g).

C. Résultats expérimentaux

L'apport phosphoré de l'ADN et des protéines est partout négligeable; pour faciliter la lecture, nous ne mentionnerons pas ces fractions dans les tableaux suivants : nous appelons P résiduel le phosphore après extraction lipidique qui comporte théoriquement le phosphore des acides nucléiques et celui des protéines; en fait, il est assimilable à celui de l'ARN.

Dans le tableau **II**, le phosphore est exprimé en mg/g de la matière sèche des pois frais, déterminée (colonne 4) et calculée (colonnes 1, 2 et 3).

La comparaison des colonnes 1, 2 et 4 a pour but de montrer comment se fait qualitativement et quantitativement la répartition du phosphore dans les pois cuits et leur jus. Celle des colonnes 3 et 4 permet de mettre en évidence une éventuelle dégradation des grandes classes de composés phosphorés. Le bilan du phosphore conduit aux chiffres de 5,88 à 5,98, respectivement pour les colonnes 4 et 3. Ces chiffres, quoique calculés, sont à 2 p. cent près identiques et donnent toute leur signification à la comparaison de ces deux colonnes.

TABLEAU II

Influence de la cuisson ménagère sur la répartition des composés phosphorés dans les pois. Mg de phosphore par gramme de la matière sèche des pois frais, déterminée (4) et calculée (1 - 2 - 3)

	1	2	3	4
	pois cuits	jus	1 + 2	pois frais
Phosphore A.S. minéral	0,26	0,64	0,90	1,16
Phosphore A.S. minéral après hydrolyse	0,33	0,73	1,06	1,33
Phosphore A.S. thermolabile (par différence)	0,07	0,09	0,16	0,17
Phosphore A.S. phytinique	2,59	0,21	2,80	2,71
Phosphore A.S. total	3,36	1,30	4,66	4,45
Phosphore lipidique	0,42	0	0,42	0,50
Phosphore résiduel ($\sim$ P ARN)	0,90	0	0,90	0,93
Phosphore total (calculé)	4,68	1,30	5,98	5,88
Phosphore total (déterminé)	4,74	1,34	6,08	5,97

D. Discussion

1° Dégradation des composés phosphorés

De la comparaison des chiffres relatifs aux colonnes 3 et 4, on peut déduire que :

— Parmi les grandes classes de composés phosphorés, seuls les phospholipides sont notablement dégradés par la cuisson; présents à raison de 0,50 mg/g dans les pois frais, ils passent à 0,42 mg dans les pois cuits et diminuent donc de 16 p. cent.

— Le phosphore nucléique n'est pas dégradé par ce traitement; nous le trouvons au taux élevé de 0,93 mg/g dans les pois frais et de 0,90 mg/g dans les pois cuits; la différence n'est pas significative.

— Le phosphore acido-soluble est de 4,5 p. cent supérieur dans les pois cuits. Cette augmentation, quoique de l'ordre de l'erreur expérimentale, peut être partiellement attribuée à l'enrichissement de l'acido-soluble par les produits de dégradation des phospholipides.

A l'intérieur de l'acido-soluble, le phosphore minéral passe de 1,16 mg dans les pois frais à 0,90 mg après cuisson; cette diminution peut paraître paradoxale : nous l'expliquons par l'action enzymatique qui s'exerce au cours du broyage analytique des pois crus. Au contraire, dans les pois cuits qui ont été jetés dans l'eau bouillante, les enzymes ont été détruits, de sorte que le broyage ultérieur est sans effet sur les composés phosphorés.

Le phosphore phytinique est intégralement conservé : nous en retrouvons 2,80 mg dans les pois cuits et leur jus pour 2,71 mg dans les pois frais; la différence n'est pas significative, et dans la mesure où on voudrait l'interpréter, son interprétation irait dans le même sens que celle du phosphore minéral.

Le phosphore organique non phytinique passe de $4,45 - (1,16 + 2,71) = 0,58$ sur le pois frais à $4,66 - (0,90 + 2,80) = 0,96$ sur le pois cuit, effet d'un double mécanisme, de préservation du phosphore organique hydrosoluble au cours du broyage et de dégradation du phosphore non acido-soluble au cours de la cuisson. Il est à remarquer que la dégradation enzymatique du phosphore organique acido-soluble se fait au détriment des constituants les moins faciles à hydrolyser, puisque la quantité de phosphore thermolabile est restée constante.

2° Diffusion du phosphore dans le jus

Au cours de la cuisson, 1,30 mg de phosphore sur 5,88 mg, soit 22 p. cent environ du phosphore des pois, passent dans l'eau sous forme de phosphore entièrement hydrosoluble. Le jus obtenu contient seulement 0,64 mg, soit 50 p. cent, de phosphore minéral; la participation du phosphore phytinique au phosphore du jus n'étant que de 0,21 mg, soit 16 p. cent environ, il reste dans le jus une quantité importante de phosphore organique non phytinique, dont une partie thermolabile.

II INFLUENCE DU BLANCHIMENT ET DE L'APPERTISATION SUR LA RÉPARTITION DES COMPOSÉS PHOSPHORÉS DANS LES POIS

A. Préparation des échantillons

Des pois provenant du même lot que les précédents ont été écosés à l'usine, blanchis à l'eau bouillante pendant 6 minutes puis congelés à -40°C en tunnel soufflé et stockés à -18°C jusqu'à leur expédition en emballage frigorifique.

Des pois de même origine, toujours non calibrés et correspondant à un échantillon moyen, ont été blanchis 6 minutes à l'eau bouillante, égouttés,

rincés, emboîtés et jutés à l'eau ordinaire salée à 1,6 p. cent puis stérilisée 35 minutes à 120° C.

B. Matières sèches

La boîte de petits pois étudiée contient 522 g de pois et 330 ml de jus pesant 336 g. Nous obtenons une matière sèche de 26,3 p. cent pour les pois appertisés, soit 137,2 g de matière sèche pour 522 g de pois. Le jus contient 56,4 mg de matière sèche par ml, soit 18,6 g pour 330 ml.

Après déduction du poids du sel de la saumure, la matière sèche totale de la boîte est celle de la quantité correspondante de pois blanchis; les résultats relatifs aux pois appertisés et à leur jus doivent donc être rapportés à la matière sèche totale pour être comparés à ceux des pois blanchis. Le poids de NaCl a été déterminé par un dosage de chlorure dans les pois et le jus. Nous trouvons 5,5 g de NaCl répartis uniquement dans le jus; le calcul basé sur la nature de la saumure utilisée conduit au chiffre de 5,3 g ($1,6 \times 330$).

Les pois blanchis ont une matière sèche de 31,8 p. cent; c'est, à l'erreur expérimentale près, la même que celle des pois frais (31,2 p. cent) surtout si l'on tient compte de la déshydratation pouvant résulter de la congélation. Il s'ensuit que les chiffres de phosphore relatifs aux pois blanchis et aux pois appertisés peuvent être comparés aux chiffres obtenus dans le chapitre précédent pour les pois frais et cuits.

C. Résultats expérimentaux

Le tableau **III** est conçu comme le précédent : les colonnes 1, 2 et 3 sont, pour les pois appertisés, les correspondantes des colonnes de même indice dans le tableau **II**. Nous donnons dans la colonne 4, les chiffres de phosphore relatifs aux pois blanchis; enfin la nature des résultats obtenus

rend intéressant le rappel de la composition des pois frais dans la colonne 5.

Les résultats sont exprimés en mg de P/g de la matière sèche des pois frais (5) et en mg/g de la matière sèche des pois blanchis, déterminée (4) et calculée (1 - 2 - 3). En première approximation, ils sont donc globalement ramenés à la même unité : la matière sèche des pois frais.

TABLEAU III

Influence du blanchiment et de l'appertisation sur la répartition des composés phosphorés dans les pois. Mg de phosphore par gramme de la matière sèche des pois frais (5) et de celle des pois blanchis, déterminée (4) et calculée (1 - 2 - 3).

	1	2	3	4	5
	pois appertisés	jus	1 + 2	pois blanchis	pois frais
Phosphore A.S. minéral	0,35	0,19	0,54	0,40	1,16
Phosphore A.S. minéral après hydrolyse	0,40	0,21	0,61	0,45	1,33
Phosphore A.S. thermolabile (par différence)	0,05	0,02	0,07	0,05	0,17
Phosphore A.S. phytinique	2,37	0,49	2,86	2,80	2,71
Phosphore A.S. total	3,18	1,05	4,23	3,84	4,45
Phosphore lipidique	0,39	0	0,39	0,53	0,50
Phosphore résiduel (~ P ARN)	0,73	0	0,73	0,96	0,93
Phosphore total (calculé)	4,30	1,05	5,35	5,33	5,88
Phosphore total (déterminé)	4,23	1,08	5,31	5,38	5,97

D. Discussion

1° Diffusion du phosphore dans le jus

Pour des raisons pratiques, l'analyse de l'eau après blanchiment des pois en usine n'était pas possible; mais la comparaison du phosphore total des pois blanchis et des pois frais montre que 0,55 mg (5,88 - 5,33) ont diffusé dans l'eau de blanchiment; or, c'est à peu près la même quantité, soit 0,61 mg (4,45 - 3,84) qui manque dans l'acido-soluble des pois blanchis; comme la quantité de phosphore apportée par les autres fractions est comparable dans les deux cas, il faut admettre que le blanchiment entraîne seulement la diffusion d'une partie du phosphore acido-soluble présent à l'origine; il ne s'agit pas de phosphore phytinique puisque nous en retrouvons 2,80 mg pour 2,71 initialement; il semble que ce soit le phosphore minéral qui diffuse, car on n'en trouve que 0,40 mg contre 1,16 mg dans les pois frais.

Au cours de l'appertisation, 1,08 mg sur 5,31 mg, soit 20 p. cent environ du phosphore des pois blanchis diffusent encore dans le jus, en faible partie sous forme de phosphore minéral (0,19 mg), le reste sous forme de phosphore phytinique (0,49 mg) et de phosphore organique non phytinique (0,37 mg).

2° Dégradation des composés phosphorés

Pendant le blanchiment, on ne constate aucune dégradation des composés phosphorés présents à l'origine; le chiffre de phosphore lipidique trouvé est même légèrement supérieur dans les pois blanchis (0,53 mg au lieu de 0,50 mg); peut-être une dégradation des phospholipides est-elle possible au cours du broyage analytique des pois frais.

L'appertisation a pour conséquence d'accroître le phosphore acido-soluble qui augmente au total de 0,39 mg. Cet enrichissement semble provenir de la dégradation du phosphore lipidique qui diminue de 0,14 mg et du phosphore

ribonucléique qui diminue de 0,23 mg. Le phosphore ainsi dégradé est présent dans l'acido-soluble, en partie sous forme minérale (0,54 - 0,40 - 0,14) et en partie sous forme organique.

Au cours de l'appertisation le phosphore phytinique n'est pas dégradé; nous en retrouvons 2,86 mg pour 2,80 dans les pois blanchis; cette conservation de la phytine après appertisation est en accord avec la littérature selon laquelle la phytine n'est dégradée que dans des conditions beaucoup plus radicales (température plus élevée et milieu acide en particulier).

III INFLUENCE COMPARÉE DE LA PRÉPARATION INDUSTRIELLE ET MÉNAGÈRE SUR LA RÉPARTITION DU PHOSPHORE DANS LES POIS

1° Diffusion du phosphore dans le jus

Comme le jus est généralement perdu pour la consommation, nous avons comparé dans le tableau **IV** les taux de phosphore perdus au cours de la cuisson ménagère et de la préparation industrielle (blanchiment et appertisation) des pois.

TABLEAU **IV**

Taux de phosphore perdus par diffusion dans le jus au cours de la cuisson industrielle (3) et ménagère (4). P. cent rapporté au phosphore total des pois initiaux.

	1	2	3	4
	jus de blanchiment *	jus des pois appertisés	1 + 2	jus de cuisson
P total	9,4	18,2	27,6	22,3
(1) Pi	9,4	3,2	12,6	10,6
P phytinique	0	8,2	8,2	3,5
(2) Po	0	6,8	6,8	8,2
Po + Pi	9,4	10,0	19,4	18,8

* déterminé par différence

(1) phosphore minéral

(2) phosphore organique non phytinique

La cuisson ménagère entraîne une perte de 22 p. cent environ du phosphore total des pois initiaux par diffusion dans l'eau. Comme le blanchiment et l'appertisation font passer au total 27 p. cent environ de ce phosphore dans l'eau et le jus, il y a un gain de 5 p. cent par cuisson ménagère. Cette différence est due à la diffusion du phosphore phytinique dans le jus pendant l'appertisation, la somme du phosphore organique non phytinique et du phosphore minéral étant pratiquement la même dans les cas de cuisson ménagère et industrielle. Comme le phosphore phytinique n'est pas assimilable ou l'est très peu, le bilan nutritionnel du phosphore est le même dans les deux cas.

2° Dégradation des composés phosphorés

On peut considérer le phosphore acido-soluble qui diffuse pendant le blanchiment comme entièrement minéral; en conséquence, dans le tableau **V** nous avons ajouté la quantité ainsi perdue (0,55 mg) au phosphore minéral des pois blanchis et des pois appertisés. La comparaison des chiffres relatifs aux 4 colonnes permet ainsi d'établir clairement les dégradations des composés phosphorés intervenant au cours de la préparation des pois. Afin de faciliter la lecture nous ne donnons pas dans ce tableau les chiffres de phosphore thermostable qui sont partout peu significatifs.

Nous l'avons déjà vu, on ne constate aucune dégradation des composés phosphorés initiaux au cours du blanchiment; comme d'autre part, le phosphore minéral des pois frais est donné par excès en raison des dégradations enzymatiques intervenant pendant le broyage analytique, il s'ensuit que les chiffres de la colonne 2 donnent de la répartition du phosphore dans les pois frais une image plus fidèle que ceux de la colonne 1.

Pendant la cuisson ménagère, seuls les phospholipides sont dégradés, à raison de 16 p. cent; le phosphore ribonucléique est intégralement conservé.

Pendant l'appertisation, la dégradation des phospholipides est plus accentuée que pendant la cuisson, puisque 22 p. cent du phosphore lipidique

sont ainsi dégradés (par rapport au phosphore lipidique des pois frais). Le phosphore nucléique est également dégradé et diminue de 0,93 mg à 0,73 mg soit de 21 p. cent environ. La principale différence entre la préparation industrielle et ménagère des petits pois se situe donc au niveau du phosphore nucléique qui est partiellement dégradé dans le premier cas et intégralement conservé dans le deuxième.

TABLEAU V

Dégradation des composés phosphorés au cours de la préparation industrielle (3) et ménagère (4) des petits pois.

Mg de phosphore par gramme de matière sèche des pois frais.

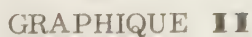
	1	2	3	4
	pois frais	pois blanchis + jus	pois appertisés + jus *	pois cuits + jus
Phosphore A.S. minéral	1,16	0,95	1,09	1,06
Phosphore A.S. phytinique	2,71	2,80	2,86	2,80
Phosphore A.S. total	4,45	4,39	4,78	4,66
Phosphore lipidique	0,50	0,53	0,39	0,42
Phosphore résiduel # P ARN	0,93	0,96	0,73	0,90
Phosphore total (calculé)	5,88	5,88	5,90	5,98

* jus d'appertisation + jus de blanchiment

L'influence des différents traitements sur la répartition des composés phosphorés dans les pois apparaît plus clairement sur le graphique II, conçu comme le graphique I, où les composés phosphorés forment des colonnes superposées, de hauteur proportionnelle à leur taux par rapport au

rapportée au P total des pois frais

- A pois frais
B pois blanchis
C pois appertisés
D pois cuits



phosphore total des pois frais pris pour unité. Nous y donnons en détail les taux de phosphore ribonucléique et désoxyribonucléique. Le phosphore résiduel, après extraction du phosphore nucléique n'est donc pas l'équivalent du phosphore appelé ainsi dans les tableaux précédents.

IV INFLUENCE DU TEMPS DE CONSERVATION SUR LA RÉPARTITION DES COMPOSÉS PHOSPHORÉS DANS LES POIS APPERTISÉS

A. Préparation des échantillons

Une boîte de pois de même origine que la précédente a été analysée après un séjour de un an à la température du laboratoire. Nous appelons II cette boîte et I la boîte analysée dès réception. La boîte II contient 544 g de pois et 330 ml de jus pesant 336 g. Nous obtenons une matière sèche de 27,3 p. cent pour les pois, soit 148,5 g de matière sèche pour 544 g de pois. Le jus contient 55,8 mg de matière sèche par gramme, soit 18,7 g pour 336 g. La matière sèche totale, après déduction du poids du sel de la saumure est égale à 161,7 g qui représentent la matière sèche de la quantité correspondante de pois blanchis.

B. Résultats expérimentaux

Dans le tableau **VI**, les colonnes 1, 2, 3 et 4, 5, 6 sont respectivement relatives aux boîtes I et II. Les chiffres des colonnes 3 et 6 sont calculés; les autres sont déterminés.

Le phosphore est exprimé en mg/g de la matière sèche des pois blanchis, calculée d'après la matière sèche totale de la boîte.

TABLEAU VI

Conservation des composés phosphorés dans les pois appertisés.

Mg de phosphore par gramme de la matière sèche calculée des pois blanchis.

I : boîte de pois analysée à la réception

II : boîte de pois analysée après un an

	1	2	3	4	5	6
	pois I	jus I	1 + 2	pois II	jus II	4 + 5
Phosphore A.S. minéral	0,35	0,19	0,54	0,33	0,28	0,61
Phosphore A.S. phytinique	2,37	0,49	2,86	2,12	0,49	2,61
Phosphore A.S. total	3,18	1,05	4,23	2,98	1,11	4,09
Phosphore lipidique	0,39	0	0,39	0,39	0	0,39
Phosphore résiduel ~ P ARN	0,73	0	0,73	0,69	0	0,69
Phosphore total (calculé)	4,30	1,05	5,35	4,06	1,11	5,17
Phosphore total (déterminé)	4,23	1,08	5,31	4,10	1,14	5,24

C. Discussion

1° Diffusion du phosphore dans le jus

Le phosphore total du jus a cru très légèrement, de 1,08 mg à 1,14 mg, probablement aux dépens de la dégradation du phosphore nucléique des pois (0,73 mg - 0,69 mg = 0,04 mg); il semble qu'il y ait aussi diffusion de phosphore minéral des pois vers le jus. Qualitativement, le jus s'est enrichi en phosphore minéral qui passe de 0,19 mg à 0,28 mg après conservation. Dans la mesure où les calculs de petites quantités par différence sont valables,

il semble que cet enrichissement se fait à la fois :

- pour 0,04 mg, aux dépens du phosphore nucléique dégradé des pois,
- pour 0,02 mg, aux dépens du phosphore minéral des pois,
- pour le reste (0,03 mg), aux dépens du phosphore organique non phytinique du jus. Le phosphore phytinique est en effet au même taux de 0,49 mg dans les jus I et II.

2° Dégradation des composés phosphorés

A l'erreur expérimentale près, les chiffres du phosphore acido-soluble total et du phosphore lipidique sont les mêmes dans les colonnes 3 et 6; par contre, il semble que la dégradation du phosphore nucléique se poursuive lentement pendant la conservation : nous en trouvons 0,69 mg seulement pour 0,73 mg à l'origine.

Qualitativement, la composition de l'acido-soluble est sensiblement modifiée car le phosphore minéral a cru de 0,54 mg à 0,61 mg. Cet enrichissement est du au jus comme nous venons de le voir plus haut.

Le phosphore acido-soluble phytinique diminue de 2,86 mg à 2,61 mg après conservation; une dégradation du phosphore phytinique à ce niveau paraît invraisemblable. Nous attribuons la différence au manque de rigueur du dosage de la phytine, d'autant que ces chiffres encadrent celui de 2,71 mg obtenu pour les pois frais. Nous concluons donc à une excellente conservation des composés phosphorés.

C O N C L U S I O N

Des recherches communes à la saucisse et aux pois, on peut déduire que :

1° Une partie très importante du phosphore total passe sous forme minérale dans le liquide de jutage où il est généralement perdu pour la consommation.

2° Certains constituants phosphorés mineurs du point de vue de leur proportion dans le stock phosphoré sont dégradés dès les premiers stades de la fabrication : il en est ainsi pour l' ADN et pour la plupart des constituants organiques acido-solubles.

3° Les constituants majeurs, phosphatides et ARN se conservent assez bien : même lorsqu'il y a une certaine dégradation au cours de la préparation, l'évolution est stoppée ou très fortement ralentie après appertisation.

De l'étude du phosphore thermolabile particulière à la saucisse, on peut déduire que :

1° Pendant le temps qui sépare le prélèvement du collier de taureau et son traitement, une quantité appréciable de phosphore organique thermolabile et thermostable est élaborée par les cellules encore vivantes du muscle.

2° Le phosphore thermolabile est relativement résistant car il n'est pas dégradé par un broyage à basse température; il est par contre partiellement dégradé par 48 heures de maturation à 4° C.

3° Il ne s'agit pas de phosphore polyphosphoryl nucléosidique qui se ramène à celui de l'ADN, et dont l'apport sous cette forme est inférieur au tiers du phosphore thermolabile total.

Il ne s'agit pas non plus de polyphosphates, pour lesquels tous nos essais de caractérisation ont échoué. Peut-être s'agit-il d'un des nombreux phosphagènes du muscle, dont certains ne sont pas encore identifiés.

4° Paradoxalement, le phosphore organique thermostable résiste moins bien au broyage que le phosphore thermolabile. Nous n'avons pas tenté de l'identifier : il faudrait en effet établir à ce niveau un inventaire détaillé des composés phosphorés que nous n'avons pas eu le temps d'entreprendre.

B I B L I O G R A P H I E

- (1) COLETTE C. - Ann. Nutr. Alim., 1962, 25, n° 4, 59.
- (2) COLETTE C. - Thèse docteur ingénieur, Montpellier, 1964.
- (3) SCHNEIDER W.C. - J. Biol. Chem., 1945, 161, 293.
- (4) MACHEBOËUF M. et DELSAL S. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1943, 25, 116.
- (5) KAHANE E. - J. Pharm. Chim., 1934, 19, 26.
- (6) KAHANE E. et ROUS S. - Pergamon Press, 1961, 82. Enzymes of lipid metabolism
- (7) HURLBERT R.B., SCHMITZ H., BRUMM A.E. et POTTER V.R. -
J. Biol. Chem., 1954, 209, 23.
- (8) SCHMITZ H., HURLBERT R.B. et POTTER V.R. - J. Biol. Chem.,
1954, 209, 41.
- (9) SCHMITZ H. - Naturwiss, 1954, 41, 120.
- (10) SCHMITZ H. - Biochim. Biophys. Acta, 1954, 14, 160.
- (11) SCHMITZ H., HART W. et RIED H. - Z. Krebsforsch, 1954, 60, 301.
- (12) SCHMITZ H., POTTER V.R. et HURLBERT R.B. - Z. Krebsforsch,
1955, 60, 419.
- (13) SCHMITZ H., POTTER V.R., HURLBERT R.B. et WHITE D.M. -
Cancer Res., 1954, 14, 66.
- (14) SMITH E.E.B. et MILLS G.T. - Biochim. Biophys. Acta, 1954, 13, 386.
- (15) STROMINGER J.L. - Biochim. Biophys. Acta, 1955, 17, 283.
- (16) JOKLIK W.K. - Biochim. Biophys. Acta, 1956, 22, 211.
- (17) HANSEN R.G., HAGEMAN E., FREEDLAND R.A. et WILKIN D.R. -
Feder. Proc., 1956, 15, 268.

- (18) BRUMM A.F., POTTER V.R. et SIEKEVITZ P. - J. Biol. Chem., 1956, 220, 713.
- (19) GINSBURG V., STUMPF P.K. et HASSID W.Z. - J. Biol. Chem., 1956, 223, 977.
- (20) REID E. et STEVENS B.M. - Biochem. J., 1957, 67, 262.
- (21) MANDEL P. et HARTH S. - C.R. Ac. Sc., 1957, 245, 1843.
- (22) KLETHI J. et MANDEL P. - Biochim. Biophys. Acta, 1957, 24, 642.
- (23) SUGINO Y. - J. Am. Chem. Soc., 1957, 79, 5074.
- (24) LEPAGE G.A. - J. Biol. Chem., 1957, 226, 135.
- (25) POTTER R.L., SCHLESINGER S., BUETTNER-JANUSCH V. et THOMPSON L. - J. Biol. Chem., 1957, 226, 381.
- (26) POTTER R.L. et BUETTNER-JANUSCH V. - Feder. Proc., 1957, 16, 234.
- (27) DENAMUR R., FAUCONNEAU G. et GUNTZ G. - C.R. Ac. Sc. 1958, 246, 652.
- (28) DENAMUR R., FAUCONNEAU G. et GUNTZ G. - C.R. Ac. Sc., 1958, 246, 2820.
- (29) CHAMBON P. et MANDEL P. - C.R. Soc. Biol., 1958, 152, 836.
- (30) MANDEL P. et KLETHI J. - Biochim. Biophys. Acta, 1958, 28, 199.
- (31) POTTER R.L. et BUETTNER-JANUSCH V. - J. Biol. Chem., 1958, 233, 462.
- (32) ORD M.G. et STOCKEN L.A. - Biochim. Biophys. Acta, 1958, 29, 201.
- (33) SCHNEIDER W.C. et ROTHERHAM J. - J. Biol. Chem., 1958, 233, 948.
- (34) CABIB E. et LELOIR L.F. - J. Biol. Chem., 1954, 206, 779.
- (35) CABIB E., LELOIR L.F. et CARDINI C.E. - J. Biol. Chem., 1953, 203, 1055.
- (36) SCHMITZ H. - Biochem. Z., 1954, 325, 555.
- (37) CAPUTTO R., LELOIR L.F., CARDINI C.E. et PALADINI A.C. - J. Biol. Chem., 1950, 184, 333.
- (38) LELOIR L.F. - Arch. Biochem. Biophys., 1951, 33, 186.
- (39) BADDILEY J. et MATHIAS A. - J. Chem. Soc., 1954, 2723.

- (40) BADDILEY J., BUCHANAN J., CARSS B., MATHIAS A. et SANDERSON A. - Biochem. J., 1954, 64, 599.
 - (41) BALLIO A., CASINOVI C. et SERLUPI-CECENZI G. - Biochim. Biophys. Acta, 1956, 20, 414.
 - (42) STROMINGER J.L. - J. Biol. Chem., 1956, 224, 509.
 - (43) SMITH E.E.B., MILLS G.T. et HARPER E.M. - Biochim. Biophys. Acta, 1957, 23, 662.
 - (44) BALLIO A. et SERLUPI-CRESCENZI G. - Nature, 1957, 179, 154.
 - (45) GREGOIRE J., GREGOIRE J. et LIMOZIN N. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1958, 40, 767.
 - (46) O' DONNELL J.F., MACKAL R.P. et EVANS E.A. - J. Biol. Chem., 1958, 233, 1523.
 - (47) COHN W.E. - J. Am. Chem. Soc., 1950, 72, 1471.
 - (48) CHAMBON P. et MANDEL P. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1959, 41, 715.
 - (49) PARNAS J.K. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1929, 11, 803.
 - (50) MULLER S. et EBEL J.P. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1958, 40, 1153.
 - (51) EBEL J.P. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1952, 34, 321 et 330.
 - (52) EBEL J.P. - Bull. Soc. Chim., 1953, 20, 991.
 - (53) HANES C.S. et ISHERWOOD F.A. - Nature, 1949, 164, 1107.
 - (54) Mc CANCE R.A. et WIDDOWSON E.M. - Biochem. J., 1935, 29, 2694.
 - (55) YOUNG L. - Biochem. J., 1936, 30, 252.
 - (56) ANDERSON G. - J. Sci. Food. Agric., 1963, 14, n° 5, 352.
 - (57) GONDARD F. - Diplôme d'études supérieures, Fac. Sci., Montpellier, 1965.
 - (58) COLIN Y. - Thèse Doctorat Sciences, Paris, 1935.
 - (59) MONTOULIAK - Thèse Doctorat Sciences, Cons. Arts et Mét., Paris.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
● INTRODUCTION	1
● TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES DE BASE	3
● PREMIÈRE PARTIE : CAS DE LA SAUCISSE APPERTISÉE	5
Chapitre I - Rappel des résultats déjà obtenus	6
Chapitre II - Hydrolyse des phosphatides	9
Chapitre III - Accroissement du phosphore thermolabile	16
Chapitre IV - Etude du phosphore thermolabile	28
● DEUXIÈME PARTIE : CAS DES PETITS POIS	38
Chapitre I - Techniques expérimentales	40
Chapitre II - Variations de la répartition des composés phosphorés au cours de la préparation des petits pois	48
● CONCLUSION	62
● BIBLIOGRAPHIE	64

DEUXIÈME THÈSE

Proposition donnée par la Faculté.

VU et permis d'imprimer

MONTPELLIER, le

Le Recteur de l'Académie
de Montpellier

VU et approuvé

MONTPELLIER, le

Le Doyen de la Faculté
des Sciences

B. CHARLES

POLY - OFFSET

36, Rue de Porto
MONTPELLIER
